

- 1 -

## 明細書

## 植物の再分化能を付与する遺伝子、並びにその利用

## 5 技術分野

本発明は、植物の再分化能を付与する遺伝子の単離・同定、並びに該遺伝子を利用した再分化能の増加、形質転換細胞の選抜法に関する。本発明によれば、植物の培養特性の改良、および安全性に配慮した形質転換法の開発が可能となる。

## 10 背景技術

植物の分化した組織は、適当な条件下に置くと脱分化し細胞分裂を経てカルス（脱分化細胞群）を形成する。カルスはさらに条件により再分化を引き起こし完全な植物体を再生することができる。このような分化した細胞もしくは脱分化した細胞が個体を再生しうる能力は分化全能性と言い、1930～1950年代のタバコ

15 やトマトなどの培養研究により最初に実証された。組織培養技術は、この分化全能性をもとにした技術であり、細胞融合や胚珠培養による新品種の作出や育種年数の短縮、遺伝形質の固定など特に植物育種分野で広く利用されてきた。近年では遺伝子機能解析を目的とした人為的な遺伝子導入（形質転換法）における基幹技術として、分子育種や植物の基礎研究にも欠かせない技術となっている。

20 一般に分化全能性は全ての植物が保持する能力とされているが、実際は植物種や品種、器官によってその能力を発揮しやすいものと、しにくいものがあることが知られている。双子葉植物に比べて主要作物のイネ、ムギ、トウモロコシなどの単子葉植物は組織培養、再分化が困難であるため形質転換法を始めとした培養を用いる解析には多くの試行錯誤が必要である。イネでは特定の品種の完熟種子

25 を用いることにより比較的容易な培養系が確立されているものの、十分な再分化能を持つ品種は限られている。特に良食味品種のコシヒカリ、ササニシキ、熱帯

BEST AVAILABLE COPY

- 2 -

地方で多く栽培されている IR 系統の品種は再分化能が低く、組織培養による植物体の再生が困難である。これら品種の再分化能が向上できれば、品種改良や遺伝子の特性研究に役立つだけでなく、再分化過程のメカニズムの解明にもつながり、さらには他の培養困難植物種や品種の再分化能の改善も期待される。

- 5      また近年、多くの遺伝子組換え農作物 (GM0) が開発され年々作付け面積が増加している一方で、その安全性に不安を持つ消費者が多い。GM0 の安全性議論において最も問題視されているのは GM0 に抗生物質耐性遺伝子が組み込まれているという点である。従って抗生物質耐性遺伝子を用いない形質転換法の開発はこれまでの GM0 に対する消費者の不安感を和らげると同時に、高価な抗生物質が不要で
- 10    かつ簡易な形質転換法として研究開発者にもメリットがあると期待される。

#### 発明の開示

-再分化能は複数の遺伝子の相互作用による量的形質 (QTL) として支配されており、未だその遺伝子座に存在する再分化能遺伝子の単離に成功した報告はない。

- 15    本発明の目的は、植物の再分化能に関与する遺伝子の単離・同定、並びに該遺伝子を利用した植物の改良方法、さらには該遺伝子を選抜マーカーとして利用する形質転換法を提供することにある。

- 本発明者らは再分化能 QTL の検出に用いる雑種集団の育成に先駆け、雑種集団の親となる品種の選定を試み、再分化能に明瞭な差が見られた日本型イネの「コシヒカリ」とインド型イネ「カサラス」2つの品種を選抜した (図1写真)。これら二つの品種を交雑した F1 個体に、コシヒカリを反復親とした戻し交雑と自殖を行い、99 系統の BC1F1 集団を作成後、BC1F2 種子を採種した。各系統の BC1F2 種子 20 粒ずつ用いてカルスを誘導培地で 30 日間培養した後、増殖したカルスを再分化培地に移植しさらに 30 日間培養した。30 日後、1 粒あたりのカルス重とシュート数を計測し、各系統について 20 粒の平均値をとりそれを再分化
- 20    シヒカリ」とインド型イネ「カサラス」2つの品種を選抜した (図1写真)。これら二つの品種を交雑した F1 個体に、コシヒカリを反復親とした戻し交雑と自殖を行い、99 系統の BC1F1 集団を作成後、BC1F2 種子を採種した。各系統の BC1F2 種子 20 粒ずつ用いてカルスを誘導培地で 30 日間培養した後、増殖したカルスを再分化培地に移植しさらに 30 日間培養した。30 日後、1 粒あたりのカルス重とシュート数を計測し、各系統について 20 粒の平均値をとりそれを再分化
- 25    能とした (図1グラフ)。各系統の遺伝子型は 262 個の PCR マーカーを用いて決定

- 3 -

した。これらのデータをもとに再分化能に関する QTL 解析を行った結果、再分化能を増加させる効果を持つ 4 箇所の QTL を検出した(図 2)。この内、第 1 番染色体短腕 TGS2451 マーカー近傍にカサラスのゲノムがコシヒカリに対して再分化能を増加させる効果の大きい QTL (*PSR1*; *Promoter of Shoot Regeneration 1*) を見いだすことに成功した (図 2)。次に *PSR1* 遺伝子の大きな座乗領域を特定するために BC2F1 集団の中から *PSR1* 領域がカサラスに置換された 30 個体を選抜し、それらの種子 (BC2F2 種子) 各 10 粒ずつを用いてカルスを誘導した。増殖カルスから DNA を抽出し分子マーカーにより遺伝子型を明らかにするとともに再分化能を調査し、連鎖解析を行った。さらに、詳細な座乗領域の特定のために *PSR1* が分離する BC3F2 種子約 3,800 粒を用いて分子マーカーによる遺伝子型を調査し、高精度連鎖解析を行った。その結果、*PSR1* は分子マーカー 3132 と P182 に挟まれる約 50.8kb 領域内に座乗することが明らかになった(図 3)。この領域に存在する遺伝子を予想した結果、Hypothetical Protein も含め 4 つの遺伝子の存在が示唆された。この内、どの遺伝子が再分化能遺伝子であるか同定するために、カサラス BAC ライブラリー (平均長 120kb) を作成し、*PSR1* 領域を含む BAC クローン (BHAL15) を PCR スクリーニングにより単離した。BHAL15 クローン内の適当な制限酵素部位を用いて各候補遺伝子領域を含むカサラスゲノム断片を調整しコシヒカリに導入したところ、フェレドキシン亜硝酸還元酵素をコードすると予想された遺伝子 (*NiR*) を含むカサラスゲノム断片 (図 3 の 3F) を導入した場合にのみコシヒカリの再分化能が増加することがわかった (図 4)。フェレドキシン亜硝酸還元酵素はフェレドキシンを電子供与体として機能する亜硝酸還元酵素であり、亜硝酸イオンをアンモニアに変換する作用を持つ。このフェレドキシン亜硝酸還元酵素と予想された遺伝子領域およびその上流約 2kb についてカサラスとコシヒカリの塩基配列を決定し比較したところ、多数の塩基配列の変異が見出された (図 5)。また semi-quantitative RT-PCR およびリアルタイム定量 PCR によりカルス中の本遺伝子 mRNA の発現量を調べたところ、カサラスではコシヒカリ

- 4 -

の約 2.5 倍量の mRNA が存在することが分かった(図 6 左写真上段、中段、および右のグラフ)。また、NiR タンパク質に特異的な抗体を用いたウェスタンブロット解析においても、コシヒカリよりカサラスで NiR タンパク質が多く蓄積されていることが分かった(図 6 左写真下段)。さらに大腸菌で発現誘導した NiR 組換えタンパクを用いてナフチルエチレンジアミン法によりタンパク質量当たりの NiR 酵素活性を比較した結果、カサラスの NiR はコシヒカリの約 1.6 倍高い酵素活性を示すことが分かった(図 7)。以上の結果から、コシヒカリとカサラスの再分化能の違いは、第一に *NiR* 遺伝子の転写調節レベルの違いによるものであり、第二に合成されたタンパク質 1 分子当たりの活性の違いが要因であることが明らかにになった。

カサラス *PSRI* 遺伝子のゲノム領域をコシヒカリに導入すると、再分化しないコシヒカリに再分化能を付与することができる。このことは、コシヒカリの形質転換を行う際に、カサラス *PSRI* 遺伝子を選抜マーカーとして利用することが可能であることを示唆している。すなわち、カサラス *PSRI* 遺伝子と目的遺伝子を並列に組み込んだベクターをコシヒカリに導入すると、*PSRI* 遺伝子が導入された細胞のみが再分化能を獲得するため、再分化した植物体には同時に目的遺伝子も導入されていると予想される。そこでこの考えを実証するために、バイナリーベクター pBI101 の T-DNA 領域内にカサラス *NiR* genome + 35S promoter *GUS*、カサラス *NiR* promoter :: *NiR* cDNA :: *NiR* terminator + 35S promoter *GUS*、イネ *Actin1* promoter :: *NiR* cDNA :: *NiR* terminator + 35S promoter *GUS* を含むベクター、および *NiR* 遺伝子を含まないベクターを構築し、コシヒカリに導入した。その結果、*NiR* 遺伝子を含む 3 種類のベクターの導入ではいずれの場合でも多数の再分化個体を得られ、かつそれらが由来するカルスでは *GUS* 遺伝子による染色が認められた(図 8)。さらに、毒性を示す亜硝酸を代謝する性質を有する *NiR* 遺伝子の特徴を利用すると、高再分化能品種への形質転換においても *NiR* 遺伝子をマーカーとして用いることができた。具体的にはイネの高発現プロモータ

- 5 -

一の1つであるアクチンプロモーター制御下で *NiR* 遺伝子を過剰発現させるベクターを高再分化品種カサラスに導入し、通常の野生型では増殖抑制される濃度の亜硝酸を添加した培地上において培養した。過剰に発現させた *NiR* 遺伝子の効果により形質転換細胞のみが増殖し、増殖した細胞にのみ GUS 染色が認められた

5 (図9)。この選抜方法を用いることにより、従来の遺伝子組換え農作物の問題点とされている微生物由来の抗生物質耐性遺伝子（形質転換細胞の選抜マーカー）を用いることなくより安全性に考慮した組換え植物の作成が可能になった。また高価な抗生物質が不要であるため形質転換体の開発コストを削減することができた。

10 即ち、本発明は、植物の再分化能を増加させる遺伝子の単離および同定、ならびに該遺伝子を利用した植物の培養特性の改良、さらには該遺伝子を選抜マーカーとして利用する形質転換法に関し、以下の[1]～[22]を提供するものである。

[1] 植物の再分化能に関与する、下記(a)から(d)のいずれかに記載の DNA。

15 (a) 配列番号：3に記載のアミノ酸配列からなるタンパク質をコードする DNA。

(b) 配列番号：1もしくは2に記載の塩基配列のコード領域を含む DNA。

(c) 配列番号：3に記載のアミノ酸配列において1または複数のアミノ酸が置換、欠失、付加、および/または挿入されたアミノ酸配列からなるタンパク質をコードする DNA。

20 (d) 配列番号：1もしくは2に記載の塩基配列からなる DNA とストリンジェントな条件下でハイブリダイズする DNA。

[2] 配列番号：3に記載のアミノ酸配列からなるタンパク質の部分ペプチドをコードする DNA。

25 [3] 配列番号：1もしくは2に記載の塩基配列のプロモーター領域を含む DNA。

[4] [1]または[2]に記載の DNA を含むベクター。

- 6 -

- [5] [3]に記載の DNA を含むベクター。
- [6] [4]に記載のベクターが導入された宿主細胞。
- [7] [4]に記載のベクターが導入された植物細胞。
- [8] [7]に記載の植物細胞を含む形質転換植物体。
- 5 [9] [8]に記載の形質転換植物体の子孫またはクローンである、形質転換植物体。
- [10] [8]または[9]に記載の形質転換植物体の繁殖材料。
- [11] [1]または[2]に記載の DNA を植物細胞に導入し、該植物細胞から植物体を再生させる工程を含む、形質転換植物体の製造方法。
- 10 [12] [1]または[2]に記載の DNA によりコードされるタンパク質。
- [13] [6]に記載の宿主細胞を培養し、該細胞またはその培養上清から組換えタンパク質を回収する工程を含む、[12]に記載のタンパク質の製造方法。
- [14] [12]に記載のタンパク質に結合する抗体。
- [15] 配列番号：1もしくは2に記載の塩基配列またはその相補配列に相補的な少なくとも15の連続する塩基を含むポリヌクレオチド。
- 15 [16] [1]または[2]に記載の DNA を植物体の細胞内で発現させる工程を含む、植物の再分化能を増加させる方法。
- [17] [1]もしくは[2]に記載の DNA、または[4]に記載のベクターを有効成分とする、植物の再分化能を改変する薬剤。
- 20 [18] 植物細胞における再分化能を判定する方法であって、植物細胞における[1]に記載の DNA または[12]に記載のタンパク質の発現を検出する工程を含む方法。
- [19] 植物細胞における再分化能を判定する方法であって、植物細胞における[12]に記載のタンパク質の活性を検出する工程を含む方法。
- 25 [20] 植物における内因性の[12]に記載のタンパク質の活性を制御することを特徴とする、植物の再分化能を改良する方法。

- 7 -

[21] 形質転換植物細胞の選抜方法であって、

(a) [1]または[2]に記載の DNA を選抜マーカーとして該 DNA を含むベクターを植物細胞に導入する工程、および

(b) 該植物細胞を培養し、再分化能を獲得した植物細胞を選抜する工程、

を含む方法。

[22] 植物における内因性の[1]または[2]に記載の DNA を交配により置換することを特徴とする、植物の再分化能を改変する方法。

- 10 本発明は、イネ由来の *NiR* タンパク質をコードする DNA を提供する。「カサラス」のゲノム DNA の塩基配列を配列番号：1 に、「カサラス」の cDNA の塩基配列を配列番号：2 に、該 DNA がコードするタンパク質のアミノ酸配列を配列番号：3 に示す。また、「コシヒカリ」のゲノム DNA の塩基配列を配列番号：4 に、「コシヒカリ」の cDNA の塩基配列を配列番号：5 に、該 DNA がコードするタンパク質のアミノ酸配列を配列番号：6 に示す。

本発明によって、植物の *PSR1* 遺伝子の発現制御あるいは活性制御により植物の再分化能が向上できることが明らかになった。これによりコシヒカリのような培養困難品種の培養を可能にし、かつ安定的に高い再分化能を有する高再分化能品種の作出が可能となった。

- 20 本発明における「再分化能の向上」とは培養条件における植物の再分化能を高めるだけで、再分化個体の形態には変化をもたらさないことを意味する。この再分化能の向上により所望の品種を様々な培養実験に供することが可能となり、その結果、効率的に新品種の開発や遺伝子の機能解析を行うことができる。

- 本発明において、「植物の *PSR1* 遺伝子」とは、植物のフェレドキシン亜硝酸還元酵素をコードする *NiR* 遺伝子を意味する。「植物の *PSR1* 遺伝子」には、イネの *PSR1* 遺伝子（図 5）、および他の植物由来の *PSR1* 遺伝子が含まれる。また *PSR1*

- 8 -

タンパク質をコードする DNA には、ゲノム DNA、cDNA、および化学合成 DNA が含まれる。ゲノム DNA および cDNA の調製は、当業者にとって常套手段を利用して行うことが可能である。ゲノム DNA は、例えば、該 *PSR1* 遺伝子を有するイネ品種（例えば、「コシヒカリ」）からゲノム DNA を抽出し、ゲノミックライブラリー

- 5 （ベクターとしては、プラスミド、ファージ、コスミド、BAC、PACなどが利用できる）を作成し、これを展開して、本発明タンパク質をコードする DNA（例えば、配列番号：1もしくは2）を基に調製したプローブを用いてコロニーハイブリダイゼーションあるいはブランクハイブリダイゼーションを行うことにより調製することが可能である。また、本発明タンパク質をコードする DNA（例
- 10 えば、配列番号：1もしくは2）に特異的なプライマーを作成し、これを利用したPCRをおこなうことにより調製することも可能である。また、cDNA は、例えば、*PSR1* 遺伝子を有するイネ品種（例えば、「コシヒカリ」）から抽出した mRNA を基に cDNA を合成し、これをλZAP 等のベクターに挿入して cDNA ライブラリーを作成し、これを展開して、上記と同様にコロニーハイブリダイゼーション
- 15 あるいはブランクハイブリダイゼーションを行うことにより、また、PCRを行うことにより調製することが可能である。

- 本発明は、配列番号：3に記載の *PSR1* タンパク質（「カサラス」）と機能的に同等なタンパク質をコードする DNA を包含する。ここで「*PSR1* タンパク質と同等の機能を有する」とは、対象となるタンパク質の発現量または活性を改変させることにより、再分化能を増加させる機能を有することを指す。
- 20

このような DNA には、例えば、配列番号：3に記載のアミノ酸配列において1若しくは複数のアミノ酸が置換、欠失、付加および/または挿入されたアミノ酸配列からなるタンパク質をコードする変異体、誘導体、アレル、バリエーションおよびホモログが含まれる。

- 25 アミノ酸配列が改変されたタンパク質をコードする DNA を調製するための当業者によく知られた方法としては、例えば、site-directed mutagenesis 法



- 9 -

(Kramer, W. & Fritz, H.-J. (1987) Oligonucleotide-directed construction of mutagenesis via gapped duplex DNA. *Methods in Enzymology*, 154: 350-367) が挙げられる。また、塩基配列の変異によりコードするタンパク質のアミノ酸配列が変異することは、自然界においても生じ得る。このように天然型の

5 PSR1 タンパク質をコードするアミノ酸配列において1もしくは複数のアミノ酸が置換、欠失もしくは付加したアミノ酸配列を有するタンパク質をコードするDNAであっても、天然型の PSR1 タンパク質（配列番号：3）と同等の機能を有するタンパク質をコードする限り、本発明の DNA に含まれる。また、たとえ、塩基配列が変異した場合でも、それがタンパク質中のアミノ酸の変異を伴わない場合

10 合（縮重変異）もあり、このような縮重変異体も本発明の DNA に含まれる。

配列番号：3 に記載の PSR1 タンパク質と機能的に同等なタンパク質をコードする DNA を調製するために、当業者によく知られた他の方法としては、ハイブリダイゼーション技術（Southern, E.M. (1975) *Journal of Molecular Biology*, 98, 503）やポリメラーゼ連鎖反応（PCR）技術（Saiki, R. K. et al. (1985) *Science*, 230, 1350-1354、Saiki, R. K. et al. (1988) *Science*, 239, 487-491）を利用する方法が挙げられる。即ち、当業者にとっては、PSR1 遺伝子の塩基配列（配列番号：2）もしくはその一部をプローブとして、また PSR1 遺伝子（配列番号：2）に特異的にハイブリダイズするオリゴヌクレオチドをプライマーとして、イネや他の植物から PSR1 遺伝子と高い相同性を有する DNA を単離することは通常行いうることである。このようにハイブリダイズ技術や PCR 技術により単離しうる PSR1 タンパク質と同等の機能を有するタンパク質をコードする

20 DNA もまた本発明の DNA に含まれる。

このような DNA を単離するためには、好ましくはストリンジেন্টな条件下でハイブリダイゼーション反応を行う。本発明においてストリンジेंटなハイブリダイゼーション条件とは、6M 尿素、0.4% SDS、0.5xSSC の条件またはこれと同等のストリンジエンシーのハイブリダイゼーション条件を指す。よりストリンジ

25

- 10 -

エンシーの高い条件、例えば、6M 尿素、0.4%SDS、0.1xSSC の条件を用いることにより、より相同性の高い DNA の単離を期待することができる。これにより単離された DNA は、アミノ酸レベルにおいて、PSR1 タンパク質のアミノ酸配列（配列番号：3 または 6）と高い相同性を有すると考えられる。高い相同性とは、アミノ酸配列全体で、少なくとも 50%以上、さらに好ましくは 70%以上、さらに好ましくは 90%以上（例えば、95%, 96%, 97%, 98%, 99%以上）の配列の同一性を指す。アミノ酸配列や塩基配列の同一性は、カーリンおよびアルチュールによるアルゴリズム BLAST (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-2268, 1990、Proc Natl Acad Sci USA 90: 5873, 1993) を用いて決定できる。BLAST のアルゴリズムに基づいた BLASTN や BLASTX と呼ばれるプログラムが開発されている (Altschul SF, et al: J Mol Biol 215: 403, 1990)。BLASTN を用いて塩基配列を解析する場合は、パラメーターは、例えば score=100、wordlength=12 とする。また、BLASTX を用いてアミノ酸配列を解析する場合は、パラメーターは、例えば score=50、wordlength=3 とする。BLAST と Gapped BLAST プログラムを用いる場合は、各プログラムのデフォルトパラメーターを用いる。これらの解析方法の具体的な手法は公知である。

ある DNA が再分化能に関与するタンパク質をコードするか否かは以下のようにして評価することができる。最も一般的な方法としては、該 DNA の機能を欠失させた上で栽培を行い、再分化能を調べる手法である。すなわち該 DNA の機能を保った条件と該 DNA の機能を欠失させた条件で培養し、再分化能を比較する方法である。再分化能が変わらないかほとんど同じ場合は、該 DNA は再分化能に関与しないと判断する。該 DNA が再分化能に関与する場合は、再分化率はより増加し、その差を再分化能の程度とみなすことができる。

本発明の DNA は、例えば、組み換えタンパク質の調製や再分化能が改変された形質転換植物体の作出などに利用することが可能である。組み換えタンパク質を調製する場合には、通常、本発明のタンパク質をコードする DNA を適当な発現ベ

- 11 -

クターに挿入し、該ベクターを適当な細胞に導入し、形質転換細胞を培養して発現させたタンパク質を精製する。組み換えタンパク質は、精製を容易にするなどの目的で、他のタンパク質との融合タンパク質として発現させることも可能である。例えば、大腸菌を宿主としてマルトース結合タンパク質との融合タンパク質として調製する方法（米国 New England BioLabs 社発売のベクター pMAL シリーズ）、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST) との融合タンパク質として調製する方法（Amersham Pharmacia Biotech 社発売のベクター pGEX シリーズ）、ヒスチジンタグを付加して調製する方法（Novagen 社の pET シリーズ）などを利用することが可能である。宿主細胞としては、組み換えタンパク質の発現に適した細胞であれば特に制限はなく、上記の大腸菌の他、例えば、酵母、種々の動植物細胞、昆虫細胞などを用いることが可能である。宿主細胞へのベクターの導入には、当業者に公知の種々の方法を用いることが可能である。例えば、大腸菌への導入には、カルシウムイオンを利用した導入方法（Mandel, M. & Higa, A. (1970) Journal of Molecular Biology, 53, 158-162、Hanahan, D. (1983) Journal of Molecular Biology, 166, 557-580）を用いることができる。宿主細胞内で発現させた組み換えタンパク質は、該宿主細胞またはその培養上清から、当業者に公知の方法により精製し、回収することが可能である。組み換えタンパク質を上記のマルトース結合タンパク質などとの融合タンパク質として発現させた場合には、容易にアフィニティー精製を行うことが可能である。また、後述する手法で、本発明の DNA が導入された形質転換植物体を作成し、該植物体から本発明のタンパク質を調製することも可能である。従って、本発明の形質転換植物体には、後述する、再分化能を改変するために本発明の DNA が導入された植物体のみならず、本発明のタンパク質の調製のために本発明の DNA が導入された植物体も含まれる。

得られた組換えタンパク質を用いれば、これに結合する抗体を調製することができる。例えば、ポリクローナル抗体は、精製した本発明のタンパク質若しくはその一部のペプチドをウサギなどの免疫動物に免疫し、一定期間の後に血液を採

- 12 -

取し、血ペイを除去することにより調製することが可能である。また、モノクローナル抗体は、上記タンパク質若しくはペプチドで免疫した動物の抗体産生細胞と骨腫瘍細胞とを融合させ、目的とする抗体を産生する単一クローンの細胞（ハイブリドーマ）を単離し、該細胞から抗体を得ることにより調製することができる。これにより得られた抗体は、本発明のタンパク質の精製や検出などに利用することが可能である。本発明には、本発明のタンパク質に結合する抗体が含まれる。これらの抗体を用いることにより、植物体における再分化能に関与するタンパク質の発現部位の判別、もしくは植物種が再分化能に関与するタンパク質を発現するか否かの判別を行うことが出来る。

- 10 本発明の DNA を利用して再分化能が増加した形質転換植物体を作製する場合には、本発明のタンパク質をコードする DNA を適当なベクターに挿入して、これを植物細胞に導入し、これにより得られた形質転換植物細胞を再生させる。ベクターを導入する植物細胞としては、本発明の DNA の発現が低い植物細胞であることが好ましい。ここでいう「植物細胞」には、種々の形態の植物細胞、例えば、懸濁培養細胞、プロトプラスト、葉の切片、カルスなどが含まれる。

植物細胞の形質転換に用いられるベクターとしては、該細胞内で挿入遺伝子を発現させることが可能なものであれば特に制限はない。例えば、プラスミド「pBI121」、「pBI221」、「pBI101」（いずれも Clontech 社製）などが挙げられる。

- 20 本発明のベクターは、本発明のタンパク質を恒常的または誘導的に発現させるためのプロモーターを含有しうる。恒常的に発現させるためのプロモーターとしては、例えば、カリフラワーモザイクウイルスの 35S プロモーター (Odell et al. 1985 Nature 313:810)、イネのアクチンプロモーター (Zhang et al. 1991 Plant Cell 3:1155)、トウモロコシのユビキチンプロモーター (Cornejo et al. 1993 Plant Mol. Biol. 23:567) などが挙げられる。

- 25 また、誘導的に発現させるためのプロモーターとしては、例えば糸状菌・細菌・ウイルスの感染や侵入、低温、高温、乾燥、紫外線の照射、特定の化合物の

- 13 -

散布などの外因によって発現することが知られているプロモーターなどが挙げられる。このようなプロモーターとしては、例えば、糸状菌・細菌・ウイルスの感染や侵入によって発現するイネキチナーゼ遺伝子のプロモーター (Xu et al. 1996 Plant Mol. Biol. 30 : 387) やタバコの PR タンパク質遺伝子のプロモーター (Ohshima et al. 1990 Plant Cell 2:95)、低温によって誘導されるイネの「lip19」遺伝子のプロモーター (Aguan et al. 1993 Mol. GenGenet. 240:1)、高温によって誘導されるイネの「hsp80」遺伝子と「hsp72」遺伝子のプロモーター (Van Breusegem et al. 1994 Planta 193:57)、乾燥によって誘導されるシロイヌナズナの「rab16」遺伝子のプロモーター (Nundy et al. 1990 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:1406)、紫外線の照射によって誘導されるパセリのカルコン合成酵素遺伝子のプロモーター (Schulze-Lefert et al. 1989 EMBO J. 8:651)、嫌気的条件下で誘導されるトウモロコシのアルコールデヒドロゲナーゼ遺伝子のプロモーター (Walker et al. 1987 Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:6624) などが挙げられる。また、イネキチナーゼ遺伝子のプロモーターとタバコの PR タンパク質遺伝子のプロモーターはサリチル酸などの特定の化合物によって、「rab16」は植物ホルモンのアブシジン酸の散布によっても誘導される。

さらに、ベクターは、本発明のタンパク質をコードする DNA のプロモーターを有していてもよい。本発明のタンパク質をコードする DNA のプロモーター領域は、例えば、配列番号：1または2に記載の塩基配列からなる DNA またはその一部をプローブとしたゲノム DNA ライブラリーのスクリーニングにより取得することが可能である。

また、本発明は、本発明のベクターが導入された形質転換細胞を提供する。本発明のベクターが導入される細胞には、組み換えタンパク質の生産に用いる上記した細胞の他に、形質転換植物体作製のための植物細胞が含まれる。植物細胞としては特に制限はなく、例えば、シロイヌナズナ、イネ、トウモロコシ、ジャガイモ、タバコなどの細胞が挙げられる。本発明の植物細胞には、培養細胞の他、

- 14 -

- 植物体中の細胞も含まれる。また、プロトプラスト、苗条原基、多芽体、毛状根も含まれる。植物細胞へのベクターの導入は、ポリエチレングリコール法、電気穿孔法（エレクトロポレーション）、アグロバクテリウムを介する方法、パーティクルガン法など当業者に公知の種々の方法を用いることができる。形質転換
- 5 植物細胞からの植物体の再生は、植物細胞の種類に応じて当業者に公知の方法で行うことが可能である（Toki et al. (1995) Plant Physiol. 100:1503-1507 参照）。例えば、イネにおいては、形質転換植物体を作成する手法については、ポリエチレングリコールによりプロトプラストへ遺伝子導入し、植物体（インド型イネ品種が適している）を再生させる方法（Datta, S. K. (1995) In Gene
- 10 Transfer To Plants (Potrykus I and Spangenberg Eds.) pp66-74)、電気パルスによりプロトプラストへ遺伝子導入し、植物体（日本型イネ品種が適している）を再生させる方法（Toki et al. (1992) Plant Physiol. 100, 1503-1507)、パーティクルガン法により細胞へ遺伝子を直接導入し、植物体を再生させる方法（Christou et al. (1991) Bio/technology, 9: 957-962.）およびアグロバクテ
- 15 リウムを介して遺伝子を導入し、植物体を再生させる方法（Hiei et al. (1994) Plant J. 6: 271-282.）など、いくつかの技術が既に確立し、本願発明の技術分野において広く用いられている。本発明においては、これらの方法を好適に用いることができる。

- 一旦、ゲノム内に本発明の DNA あるいは本発明の DNA が導入された形質転換植
- 20 物体が得られれば、該植物体から有性生殖または無性生殖により子孫を得ることが可能である。また、該植物体やその子孫あるいはクローンから繁殖材料（例えば、種子、果実、切穂、塊茎、塊根、株、カルス、プロトプラスト等）を得て、それらを基に該植物体を量産することも可能である。本発明には、本発明の DNA が導入された植物細胞、該細胞を含む植物体、該植物体の子孫およびクローン、
- 25 並びに該植物体、その子孫、およびクローンの繁殖材料が含まれる。

このようにして作出された再分化能が改変された植物体は、野生型植物体と比

- 15 -

較して、その再分化能が変化している。例えば、イネアクチンプロモーターの制御下において PSR1 タンパク質をコードする DNA を導入した植物体では、その再分化能の増加が期待される。本発明の手法を用いれば、有用農作物であるイネにおいては、その再分化能を増加することができ、高再分化能イネ品種の育成の上

5 で非常に有益である。

また、本発明は、配列番号：1 もしくは 2 に記載の塩基配列またはその相補配列に相補的な少なくとも 15 の連続する塩基を含むポリヌクレオチドを提供する。ここで「相補配列」とは、A:T、G:C の塩基対からなる 2 本鎖 DNA の一方の鎖の配列に対する他方の鎖の配列を指す。また、「相補的」とは、少なくとも 15 個の

10 連続したヌクレオチド領域で完全に相補配列である場合に限られず、少なくとも 70%、好ましくは少なくとも 80%、より好ましくは 90%、さらに好ましくは 95%以上（例えば、96%以上、97%以上、98%以上、99%以上）の塩基配列の同一性を有すればよい。このような DNA は、本発明の DNA の検出や単離を行なうためのプローブとして、また、増幅を行なうためのプライマーとして有用である。

15 さらに、本発明は、植物の再分化能の有無を判定する遺伝子診断方法を提供する。本発明において「植物の再分化能の有無を判定」とは、これまでに栽培されていた品種における再分化能の有無の判定に有効のみならず、交配や遺伝子組換え技術による新しい品種における再分化能の有無の判定も含まれる。この方法は特に日本型イネ品種の再分化能の有無の判定に有効である。

20 本発明の植物の再分化能の有無を評価する方法は、植物の PSR1 タンパク質をコードする DNA および PSR1 タンパク質の発現量を検出することを特徴とする。例えば、PSR1 をコードする DNA または PSR1 タンパク質の発現がコシヒカリの当該遺伝子およびタンパク質より高ければ、この被検植物は再分化能を持つ品種であると診断される。

25 本発明は植物の形質転換における選抜マーカーとしての PSR1 遺伝子の利用法についても提供する。これまでに用いられている、形質転換した植物細胞の選抜

- マーカー遺伝子としては、例えば抗生物質ハイグロマイシンに耐性であるハイグロマイシンホスホトランスフェラーゼ遺伝子、カナマイシンまたはゲンタマイシンに耐性であるネオマイシンホスホトランスフェラーゼ、除草剤ホスフィノスリンに耐性であるアセチルトランスフェラーゼ遺伝子、およびビアラフォスに耐性であるビアラフォス耐性遺伝子等が挙げられる。これらの遺伝子を用いる場合は、選抜マーカー遺伝子の種類に従って適当な選抜用薬剤を含む公知の選抜用培地上で培養することにより形質転換された植物培養細胞を得る。これら薬剤耐性遺伝子に対して *PSRI* 遺伝子を選抜マーカーとして利用する場合、形質転換する植物細胞がコシヒカリのような再分化能がないものであれば、選抜のための特別な薬剤等を用いることなく再分化能の獲得をマーカー形質として形質転換体を選抜できる。つまり非形質転換体は再分化できないため *PSRI* 遺伝子の効果により再分化した個体が形質転換体とみなされる。また、再分化能を持つ植物細胞に *PSRI* 遺伝子を選抜マーカーとして利用する場合は、選抜用培地に非形質転換体の生育が阻害される濃度の亜硝酸を加えることにより形質転換細胞を選抜することができる。従来の形質転換体の選抜に用いる上記の薬剤耐性遺伝子は微生物由来の遺伝子であるため、それら遺伝子が残存する組換え農作物 (GMO) は生態系への影響や人体への不安が問題視されている。しかしながら本発明の *PSRI* 遺伝子による形質転換体の選抜方法によれば、それらの不安が軽減されるとともに安価な遺伝子組換え作物の開発が可能になるという利点を有する。
- なお本明細書において引用された全ての先行技術文献は、参照として本明細書に組み入れられる。

#### 図面の簡単な説明

- 図 1 は、コシヒカリおよびカサラスの表現型を示すグラフおよび写真である。写真は、左側がコシヒカリ、右側がカサラスを示す。グラフは、コシヒカリ、カサラスの再分化能を 1 g カルスあたりの再分化個体数で表した。



図 2 は、再分化能 QTL の染色体における位置を示す図である。

図 3 は、再分化能 QTL の高精度連鎖 MAP を示す図である。

図 4 は、相補性検定の結果を示す写真である。左側がベクターのみをコシヒカリに導入したもの、右側がカサラスの 3F 断片をコシヒカリに導入した場合の再  
5 分化の様子を示す。

図 5 は、コシヒカリ *NiR* ゲノム配列に対するカサラス *NiR* ゲノムの変異部位を示す図である。模式図中のアラビア数字は挿入または欠失の塩基数を示す。黒四角はコード領域を示す。垂直線は置換部位を示す。枠内の配列は、コシヒカリ  
（上側）とカサラス（下側）における *NiR* 遺伝子配列を比較した図である。四角  
10 で囲った部位はコシヒカリとカサラスで異なっていたアミノ酸を示す。斜体太字で示した領域は葉緑体移行ペプチドドメインを、点線下線で示した領域はフェレドキシン結合領域を、下線で示した部位は 4Fe-4S クラスターを示す。

図 6 は、コシヒカリとカサラスのカルスにおける *NiR* 遺伝子および *NiR* タンパク質の発現量を比較した写真および図である。左写真上段は *NiR* 遺伝子を semi-  
15 quantitative RT-PCR で検出したもの、左写真中段は発現コントロールとしてイネユビキチン 1 遺伝子 (*Rubq1*) を semi-quantitative RT-PCR で検出したもの、左写真下段は *NiR* タンパク質の抗体を用いてウェスタンブロットハイブリダイゼーションにより *NiR* タンパク質を検出したもの、右のグラフは *Rubq1* 遺伝子の発現量を内部標準としてリアルタイム定量 RT-PCR で *NiR* 遺伝子の発現量を測定し  
20 た結果を示す。RT-PCR のプライマー部位は図 5 に示す。

図 7 は、コシヒカリおよびカサラスの *NiR* 組換えタンパク質の酵素活性を比較したグラフである。

図 8 は、*NiR* 遺伝子の選抜マーカーとしての有効性を確認する実験結果を示す図および写真である。模式図は形質転換に用いたバイナリーベクターの T-DNA 領域の図である。写真はそれぞれのベクターをコシヒカリに導入した場合の再分化  
25 の様子を示す。表は再分化個体における GUS 染色個体の割合を示す。

- 18 -

図9は、アクチンプロモーターにより *NiR* 遺伝子を過剰発現させるベクターを  
カサラスへ導入した場合のカルスの選抜結果を示す写真である。上段写真はカル  
スの選抜結果を示す。培地中には亜硝酸が添加されており形質転換体の a は *NiR*  
遺伝子の過剰発現の効果により増殖しているのに対して b の非形質転換体ではカ  
5 ルスの増殖が抑制されている。下段の写真は a, b カルスの GUS 染色結果を示す。

#### 発明を実施するための最良の形態

以下、本発明を実施例によりさらに具体的に説明するが本発明はこれら実施例  
に制限されるものではない。

#### 10 〔実施例1〕 試験材料の選定および準同質遺伝子系統の作製

QTL 解析を行う雑種集団の育成に先駆け、雑種集団の親となる品種の選定を試  
みた。まず、日本型イネ-数品種、インド型イネ-数品種の平均再分化能を調査し、  
両品種間で再分化能に明瞭な差が見られた日本型イネの「コシヒカリ」とインド  
型イネ「カサラス」2つの品種を選抜した(図1写真)。日本型品種「コシヒカ  
15 リ」にインド型品種「カサラス」を交雑した F1 個体に、コシヒカリを反復親と  
した戻し交雑と自殖を行い、BC1F1 集団を作成後、BC1F2 種子を採種した。各系  
統の BC1F2 種子 20 粒ずつ用いてカルスを誘導培地で 30 日間培養した後、増殖し  
たカルスを再分化培地に移植し、移植後 30 日経た時点で1粒あたりのカルス重  
とシュート数を計測し、各系統について20粒の平均値をとりそれを再分化能と  
20 した(図1グラフ)。各系統の遺伝子型は262個のPCRマーカーを用いて決定し  
た。

これらのデータをもとに再分化能に関する QTL 解析を行った結果、再分化能を  
増加させる効果を持つ4箇所の QTL を検出した(図2)。この内、第1番染色体短  
腕 TGS2451 マーカー近傍にカサラスのゲノムがコシヒカリに対して再分化能を増  
25 加させる効果の大きい QTL (*PSR1*; *Promoter of Shoot Regeneration 1*) を見い  
だすことに成功した。返し戻し交雑と MAS を用いて、*PSR1* 準同質遺伝子系統

(Nil-PSR1:コシヒカリの染色体にカサラスの第1染色体 TGS2451 マーカー近傍が置換した系統) を作製した。Nil-PSR1 及びコシヒカリ (コントロール) の再分化能を調査し、QTL (PSR1) の存在を確認した。第1染色体短腕、TGS2451 近傍がカサラスに置換した系統は平均で 14.7 倍再分化能を増加させた。

5   【実施例2】   *PSR1* の分離集団を用いた高精度連鎖解析

BC2F1 集団の中から *PSR1* 領域がカサラスに置換された 30 個体を選抜し、それらの種子 (BC2F2 種子) 各 10 粒ずつを用いてカルスから DNA を抽出して分子マーカーにより遺伝子型を明らかにするとともに再分化能を調査し、連鎖解析を行った。その後さらに詳細な座乗領域の特定のために *PSR1* が分離する BC3F2 種子  
10   約 3,800 粒を用いて分子マーカーによる遺伝子型を調査し、高精度連鎖解析を行った。その結果、*PSR1* は分子マーカー 3132 と P182 に挟まれる約 50.8kb 領域内に座乗することが明らかになった (図3)。この領域に存在する遺伝子を予想した結果、Hypothetical Protein も含め 4 つの遺伝子の存在が示唆された。この内、どの遺伝子が再分化能遺伝子であるか同定するために、カサラス BAC ライブラリ  
15   ー (平均長 120kb) を作成し、*PSR1* 領域を含む BAC クローン (BHAL15) を PCR スクリーニングにより単離した。BHAL15 クローン内の適当な制限酵素部位を用いて各候補遺伝子領域を含むカサラスゲノム断片を調整しコシヒカリに導入したところ、フェレドキシン亜硝酸還元酵素をコードすると予想された遺伝子 (*NiR*) を含むカサラスゲノム断片 (図3の 3F) を導入した場合にのみコシヒカリの再分  
20   化能がすることがわかった (図4)。このフェレドキシン亜硝酸還元酵素と予想された遺伝子領域およびその上流約 2kb についてカサラスとコシヒカリの塩基配列を決定し比較したところ、多数の塩基配列の変異が見出された (図5)。

【実施例3】   培養困難品種の培養特性の改良

コシヒカリに再分化能を付与する目的でカサラスの *PSR1* 遺伝子領域 (ゲノム  
25   配列でも cDNA 配列でも可。) をコシヒカリに導入すると高再分化能なコシヒカリが得られた (図4、図8、図9)。この時 *PSR1* 遺伝子の発現に用いるプロモータ

- 20 -

ーは PSR プロモーターでもアクチンプロモーターのような恒常的プロモーターでも効果が見られた。

〔実施例 4〕 *PSR1* 遺伝子および PSR1 タンパク質の発現解析

semi-quantitative RT-PCR およびリアルタイム定量 PCR によりカルス中の *NiR* mRNA の発現量を調べたところ、カサラスではコシヒカリの約 2.5 倍量の mRNA が存在することが分かった(図 6 左写真上段、中段、および右のグラフ)。また、*NiR* タンパク質に特異的な抗体を用いたウェスタンブロット解析においても、コシヒカリよりカサラスで *NiR* タンパク質が多く蓄積されていることが分かった(図 6 左写真下段)。さらに大腸菌で発現誘導した *NiR* 組換えタンパクを用いてナフチルエチレンジアミン法によりタンパク質量あたりの *NiR* 酵素活性を比較した結果、カサラスの *NiR* タンパク質はコシヒカリの約 1.6 倍高い酵素活性を示すことが分かった(図 7)。以上の結果から、コシヒカリとカサラスの再分化能の違いは、第一に *NiR* 遺伝子の転写調節レベルの違いによるものであり、第二に合成されたタンパク質 1 分子あたりの活性の違いも要因となっていることが明らかになった。

〔実施例 5〕 再分化能を選抜形質とする形質転換

カサラス *PSR1* 遺伝子をコシヒカリに導入すると再分化しないコシヒカリに再分化能を付与することができる。このことは、コシヒカリの形質転換を行う際に、カサラス *PSR1* 遺伝子を選抜マーカーとして利用することが可能であることを示している。すなわち、カサラス *PSR1* 遺伝子と目的遺伝子を並列に組み込んだベクターをコシヒカリに導入すると、*PSR1* 遺伝子が導入された細胞のみが再分化能を獲得するため、再分化した植物体には同時に目的遺伝子も導入されていると予想される。そこでこの考えを実証するために、バイナリーベクター pBI101 の T-DNA 領域内にカサラス *NiR* genome + 35S promoter *GUS*, カサラス *NiR* promoter :: *NiR* cDNA :: *NiR* terminator + 35S promoter *GUS*, イネ Actin1 promoter :: *NiR* cDNA :: *NiR* terminator + 35S promoter *GUS* を含むベクター、

- 21 -

および *NiR* 遺伝子を含まないベクターを構築し、コシヒカリに導入した。その結果、*NiR* 遺伝子を含む 3 種類のベクターの導入では多数の再分化個体を得られ、かつそれらが由来するカルスでは GUS 遺伝子による染色が認められた (図 8)。

- さらに、毒性を示す亜硝酸を代謝する性質を有する *NiR* 遺伝子の特徴を利用すると、高再分化能品種への形質転換においても *NiR* 遺伝子をマーカーとして利用
- 5 できた。具体的には、イネの高発現プロモーターの 1 つであるアクチンプロモーター制御下で *NiR* 遺伝子を過剰発現させるベクターを高再分化品種カサラスに導入し、通常の野生型では増殖抑制される濃度の亜硝酸を添加した培地上において培養した。過剰に発現させた *NiR* 遺伝子の効果により形質転換細胞のみが増殖し、
- 10 増殖した細胞にのみ GUS 染色が認められた (図 9)。この選抜方法を用いることにより、従来の微生物由来の抗生物質耐性遺伝子を選抜マーカーとする場合に比べて抗生物質のコストが削減できる上に、再分化した植物体には微生物の遺伝子が含まれないため、より環境に考慮した組換え植物の作成も可能になる。

## 15 産業上の利用の可能性

- 近年、有用植物の開発や遺伝子の機能解析などにおいて形質転換法を用いた研究が加速している。形質転換法は交配と選抜を主体とする従来育種では不可能な生物種を超えた遺伝子利用が可能なため、これまでにない新たな植物を作出できる可能性がある。また次々と解明されるゲノム配列解読を受け、個々の遺伝子機能の解明を目的とした遺伝子破壊や発現制御解析なども形質転換法を利用して行
- 20 われている。一般に形質転換植物を作製する場合、導入したい遺伝子と抗生物質などの薬剤耐性マーカー遺伝子とを共に含むプラスミドベクターをアグロバクテリウム法や電気穿孔法 (エレクトロポレーション法) などで植物細胞に導入し、薬剤処理により形質転換細胞を選抜する。選抜した形質転換細胞は細胞増殖を経て植物体へと再分化される。つまりこのような形質転換法を利用するためには組
- 25 織培養技術の確立が不可欠である。また組織培養技術は、形質転換法だけでなく、

- 22 -

培養変異による変異体の作出、細胞融合や胚珠培養による品種育成、遺伝形質の固定や育種年数の短縮などにも非常に有効である。

イネは主要穀物の中ではもっとも培養技術の利用が進んでいる植物ではあるが、その培養特性が品種により大きく異なることが問題とされている。特にコシヒカリやあきたこまちなどの日本における主要品種や熱帯地方で栽培されている多くのインド型品種は培養が困難であり、これらの品種は組織培養の材料にすることができない。このような培養特性の品種間差はイネに限らず多くの植物に共通して見られる現象であるが、その原因の解明は進んでいない状況にある。

発明者らによる再分化能に関与する遺伝子の単離により、高再分化能形質を分子マーカーを用いて、効率的に選抜したり（マーカー選抜育種）、分子生物学的手法を用いた再分化能の改良が可能になった（分子育種）。また *PSR1* 遺伝子を選抜マーカーとして利用することにより、より安価で環境影響に配慮した形質転換植物の作成法が可能となった。

イネ、トウモロコシ、コムギ、オオムギなどの穀類は、人類の主要エネルギー源となっており、人類にとって最も重要な植物である。これら穀類はすべてイネ科に属し、同一祖先から進化したと考えられており、お互いに高い遺伝子の相同性（ゲノムシンテニー）を有する。この中で最もゲノムサイズが小さい穀物がイネであり、イネが穀類のモデル植物として利用されている所以でもある。イネの遺伝子はその類縁のムギやトウモロコシゲノム中にも存在し、イネで単離された遺伝子はムギやトウモロコシから容易に単離する事が出来るばかりか、ムギやトウモロコシなどの穀物育種へ直接応用することも可能となるので、本遺伝子は、イネのみならず、広く植物に応用可能と思われる。

- 23 -

請求の範囲

1. 植物の再分化能に関与する、下記 (a) から (d) のいずれかに記載の DNA。  
5 (a) 配列番号：3 に記載のアミノ酸配列からなるタンパク質をコードする DNA。  
(b) 配列番号：1 もしくは 2 に記載の塩基配列のコード領域を含む DNA。  
(c) 配列番号：3 に記載のアミノ酸配列において 1 または複数のアミノ酸が  
置換、欠失、付加、および／または挿入されたアミノ酸配列からなるタン  
10 パク質をコードする DNA。  
(d) 配列番号：1 もしくは 2 に記載の塩基配列からなる DNA とストリンジェ  
ントな条件下でハイブリダイズする DNA。
2. 配列番号：3 に記載のアミノ酸配列からなるタンパク質の部分ペプチドを  
コードする DNA。
- 15 3. 配列番号：1 もしくは 2 に記載の塩基配列のプロモーター領域を含む DNA。  
4. 請求項 1 または請求項 2 に記載の DNA を含むベクター。  
5. 請求項 3 に記載の DNA を含むベクター。  
6. 請求項 4 に記載のベクターが導入された宿主細胞。  
7. 請求項 4 に記載のベクターが導入された植物細胞。
- 20 8. 請求項 7 に記載の植物細胞を含む形質転換植物体。  
9. 請求項 8 に記載の形質転換植物体の子孫またはクローンである、形質転換  
植物体。  
10. 請求項 8 または請求項 9 に記載の形質転換植物体の繁殖材料。  
11. 請求項 1 または請求項 2 に記載の DNA を植物細胞に導入し、該植物細胞  
25 から植物体を再生させる工程を含む、形質転換植物体の製造方法。  
12. 請求項 1 または請求項 2 に記載の DNA によりコードされるタンパク質。

- 24 -

- 1 3. 請求項 6 に記載の宿主細胞を培養し、該細胞またはその培養上清から組換えタンパク質を回収する工程を含む、請求項 1 2 に記載のタンパク質の製造方法。
- 1 4. 請求項 1 2 に記載のタンパク質に結合する抗体。
- 5 1 5. 配列番号：1 もしくは 2 に記載の塩基配列またはその相補配列に相補的な少なくとも 15 の連続する塩基を含むポリヌクレオチド。
- 1 6. 請求項 1 または請求項 2 に記載の DNA を植物体の細胞内で発現させる工程を含む、植物の再分化能を増加させる方法。
- 1 7. 請求項 1 もしくは請求項 2 に記載の DNA、または請求項 4 に記載のベクターを有効成分とする、植物の再分化能を改変する薬剤。
- 10 1 8. 植物細胞における再分化能を判定する方法であって、植物細胞における請求項 1 に記載の DNA または請求項 1 2 に記載のタンパク質の発現を検出する工程を含む方法。
- 1 9. 植物細胞における再分化能を判定する方法であって、植物細胞における請求項 1 2 に記載のタンパク質の活性を検出する工程を含む方法。
- 15 2 0. 植物における内因性の請求項 1 2 に記載のタンパク質の活性を制御することを特徴とする、植物の再分化能を改良する方法。
- 2 1. 形質転換植物細胞の選抜方法であって、  
(a) 請求項 1 または請求項 2 に記載の DNA を選抜マーカーとして該 DNA  
20 を含むベクターを植物細胞に導入する工程、および  
(b) 該植物細胞を培養し、再分化能を獲得した植物細胞を選抜する工程、  
を含む方法。
- 2 2. 植物における内因性の請求項 1 または請求項 2 に記載の DNA を交配により  
25 置換することを特徴とする、植物の再分化能を改変する方法。



図1

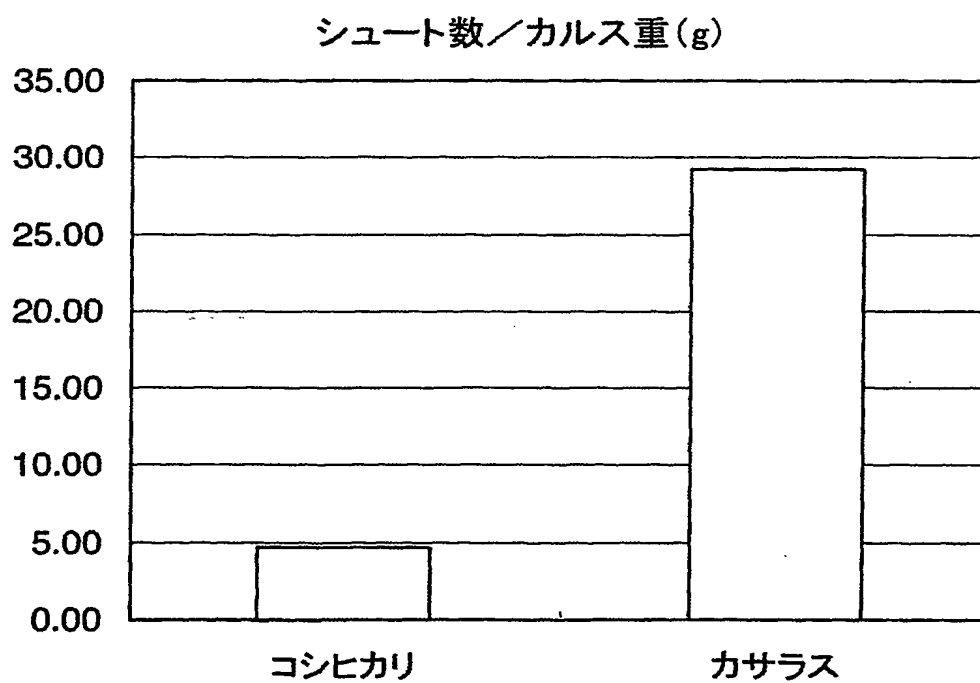
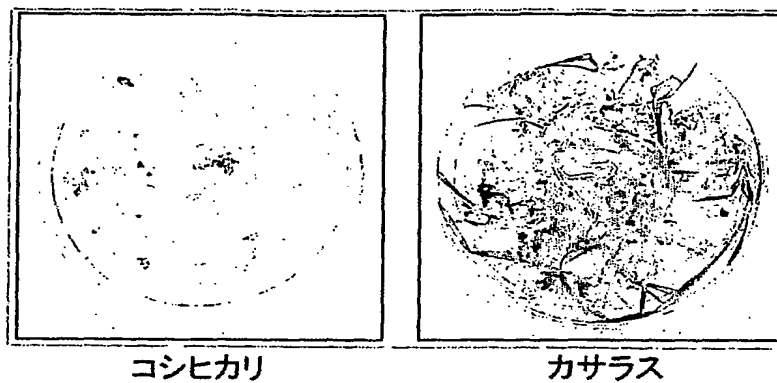
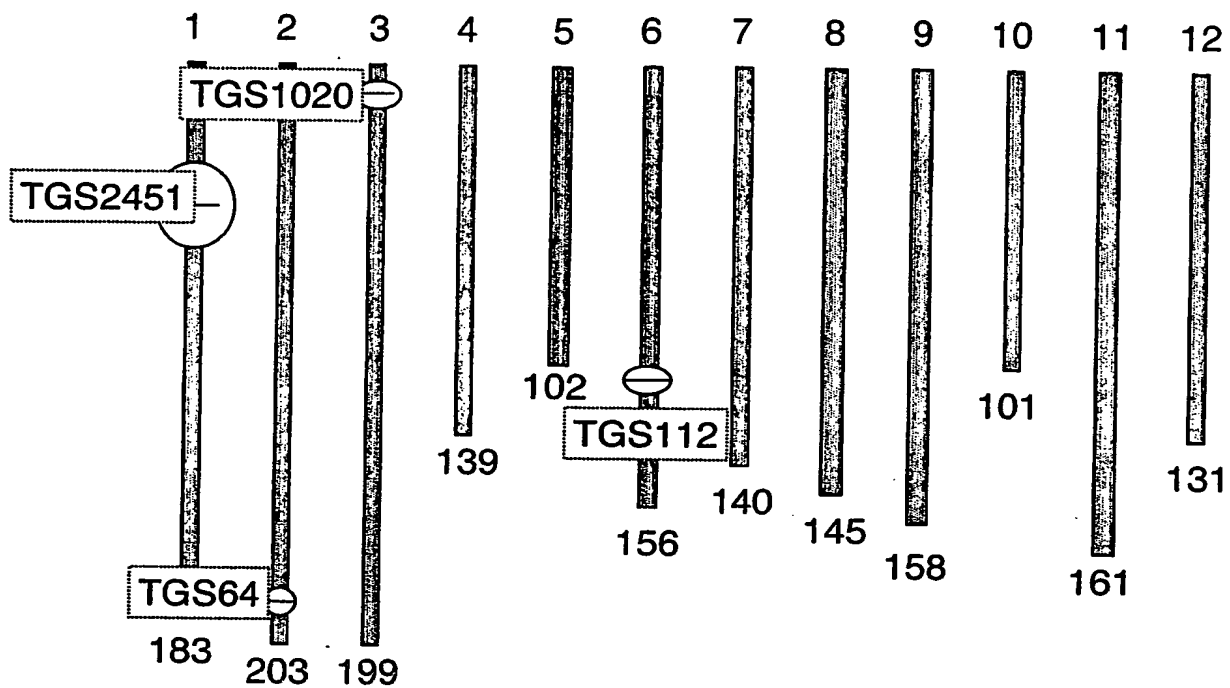
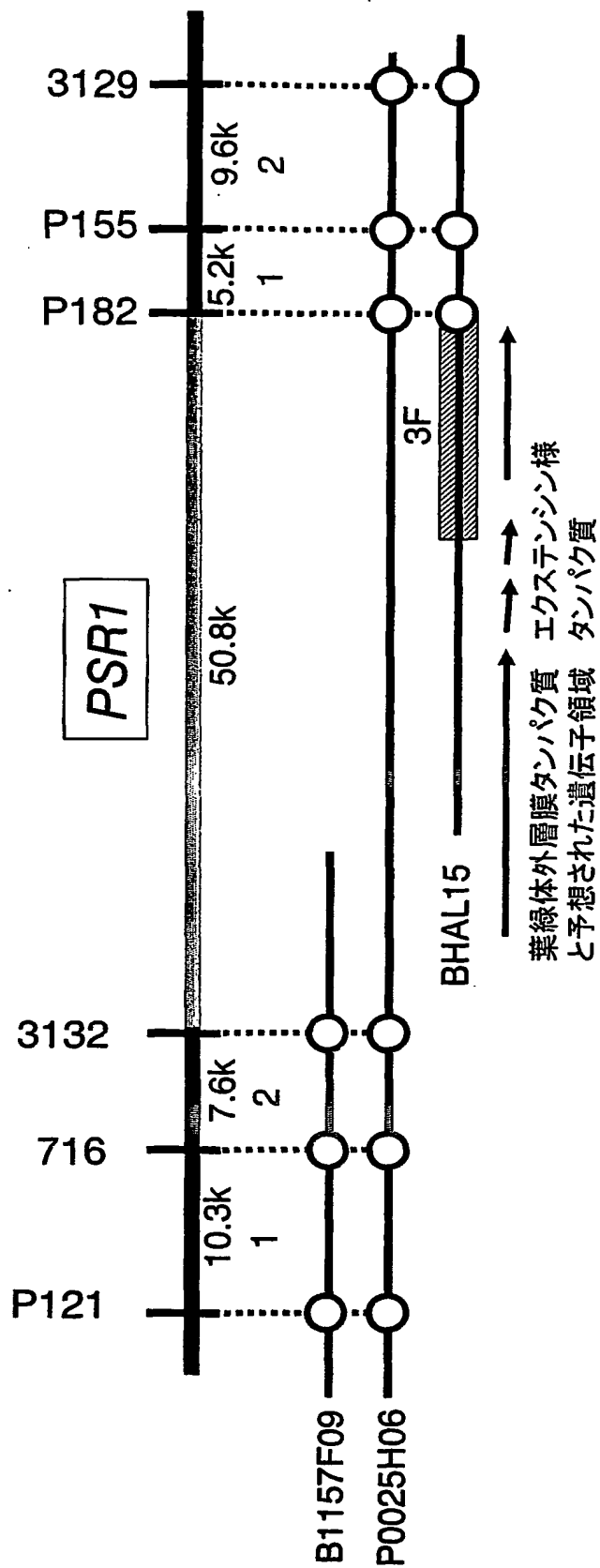


図2



3/8

図3

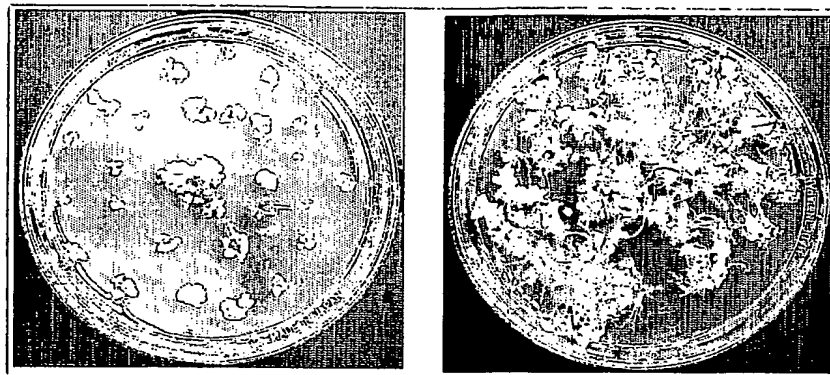


Hypothetical Protein

フェレドキシン亜硝酸還元酵素を  
コードすると予想された遺伝子

4/8

図4



ベクター

3F



6/8

図6

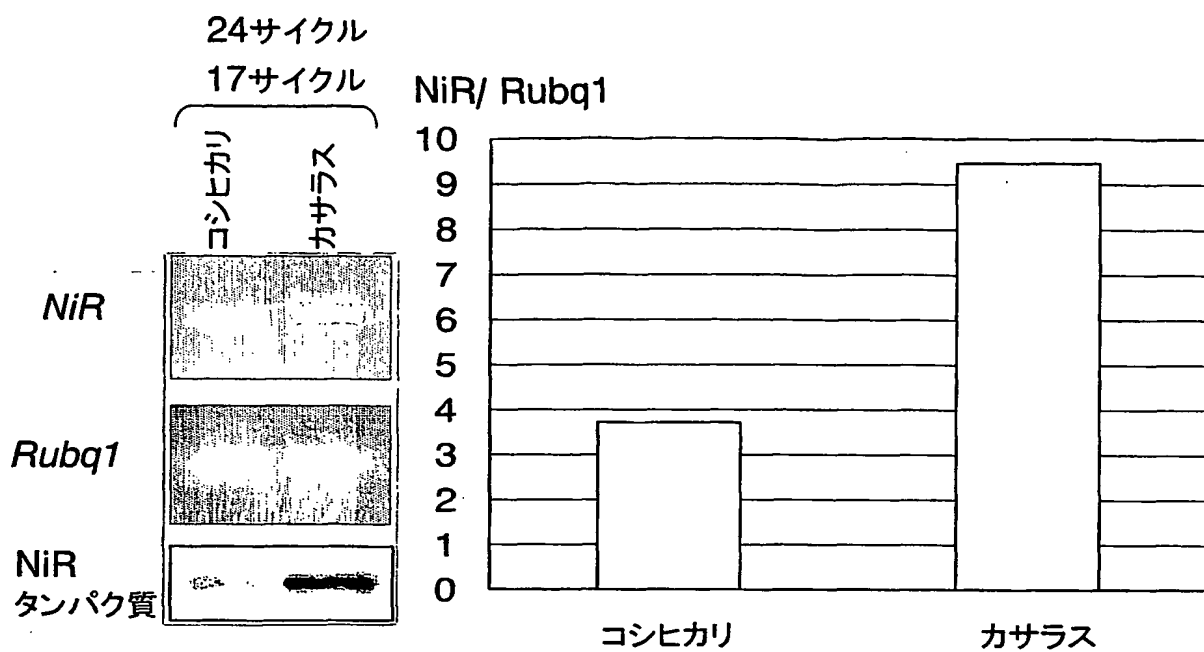
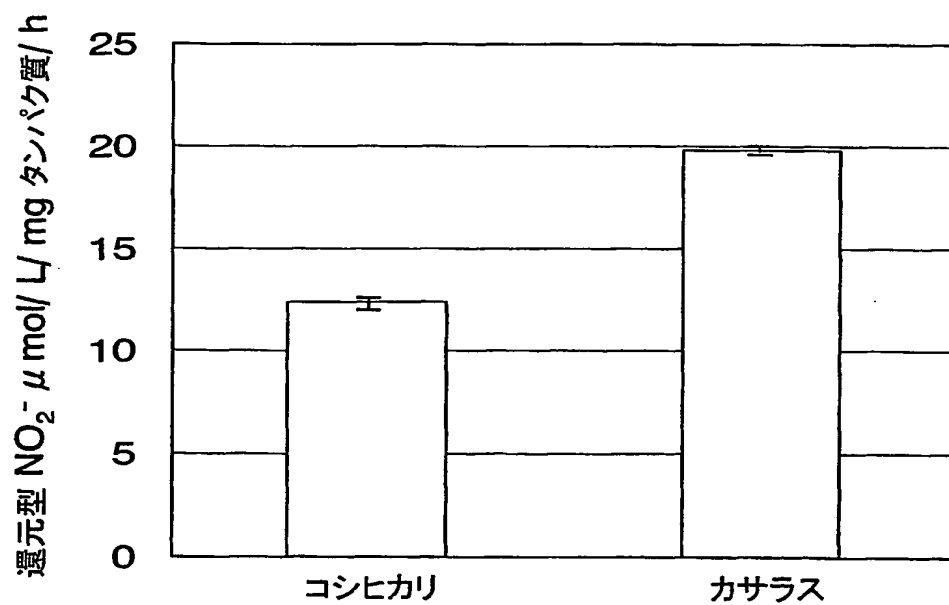
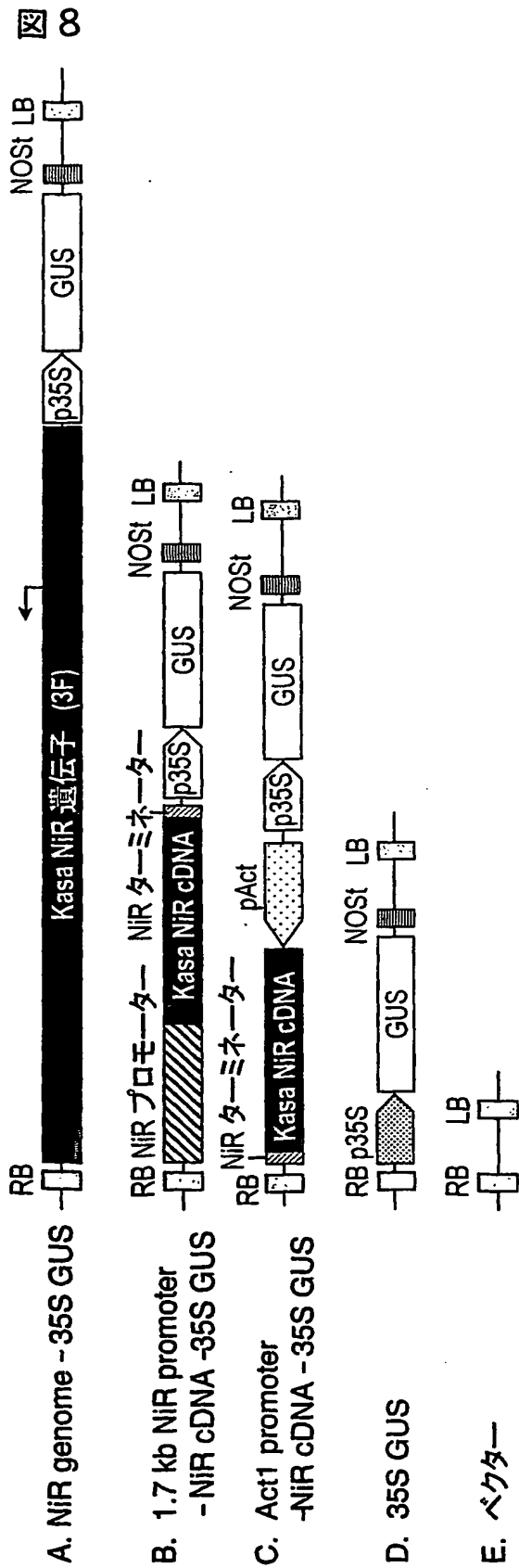
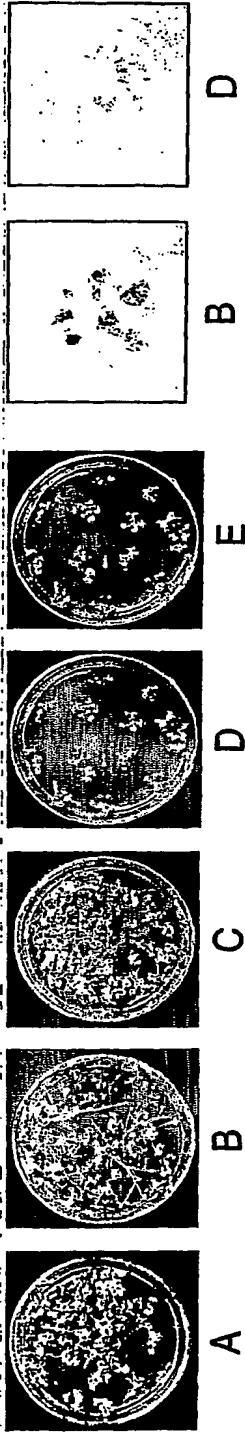


図7





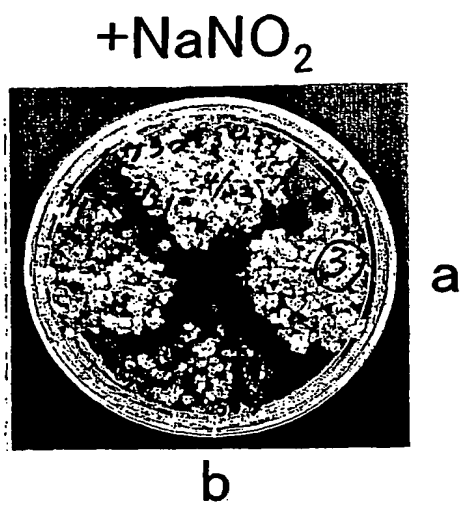
再分化比率



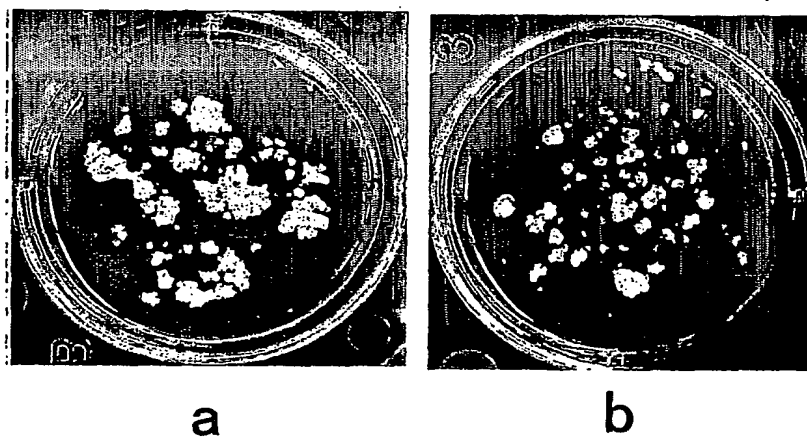
|   | 再分化カルス | GUS染色カルス | GUS染色カルス % |
|---|--------|----------|------------|
| A. NiR genome - 35S GUS                     | 29     | 28       | 97         |
| B. 1.7 kb NiR promoter - NiR cDNA - 35S GUS | 54     | 48       | 88         |
| C. Act1 promoter - NiR cDNA - 35S GUS       | 42     | 34       | 81         |

8/8

図9



GUS染色





1 / 68

SEQUENCE LISTING

<110> HONDA MOTOR CO., LTD.

<120> GENES THAT INCREASE REGENERATION ABILITY OF PLANTS AND USES  
THEREOF

<130> H3-A0301P

<150> US 60/491837

<151> 2003-07-31

<160> 6

<170> PatentIn version 3.1

<210> 1

<211> 12161

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> exon

<222> (6010).. (6418)

<223>

2 / 68

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; exon

&lt;222&gt; (10247).. (10601)

&lt;223&gt;

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; exon

&lt;222&gt; (10703).. (10991)

&lt;223&gt;

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; exon

&lt;222&gt; (11076).. (11813)

&lt;223&gt;

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (4429).. (4429)

&lt;223&gt; "n"=a, t, g or c.

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (4479).. (4479)

&lt;223&gt; "n"=a, t, g or c.

&lt;220&gt;

3 / 68

<221> misc\_feature

<222> (4520).. (4520)

<223> "n"=a, t, g or c.

<220>

<221> misc\_feature

<222> (4555).. (4555)

<223> "n"=a, t, g or c.

<220>

<221> misc\_feature

<222> (4561).. (4561)

<223> "n"=a, t, g or c.

<220>

<221> misc\_feature

<222> (4563).. (4563)

<223> "n"=a, t, g or c.

<220>

<221> misc\_feature

<222> (4577).. (4578)

<223> "n"=a, t, g or c.

<220>

<221> misc\_feature

4 / 6 8

&lt;222&gt; (4823).. (4823)

&lt;223&gt; "n"=a, t, g or c.

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (7186).. (7186)

&lt;223&gt; "n"=a, t, g or c.

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; misc\_feature

&lt;222&gt; (11994).. (11994)

&lt;223&gt; "n"=a, t, g or c.

&lt;400&gt; 1

|  |     |
|--|-----|
| ctcgagcttt tttgactgcc ctaatcaggc gggttccttg tgggaccac ataatgcttt   | 60  |
| ttttaatgcg cttcacgggc tgcattgcaaa ctatacggca tgggacttcc actactagaa | 120 |
| aaaacgggcg gtcgaaacac gttttcgcag gcaggcaaac cttccacatg tatcttaacg  | 180 |
| accgtaaaaa tctccaattt tcacaggtgg accacagcac cgttttcgca ggctacattt  | 240 |
| cgaatcttcc tgggtgctac agtaaaccac ctgcaaaaat actcacggcg ccaaaaaaaaa | 300 |
| tttcggccag ccccgcccc tccctattca aatcacaaat cacaattct cacaattctc    | 360 |

5 / 6 8

atccaaaaac aaaatccaat ccaaaaatcc atacatcaac acaaagcatt ggattcaaat 420

ccacaacatc aatttacaag ttaacatcaa tcaacatgta agctttaaaa cgaaacgtcg 480

tcgtcgccgg caaactcctt tgcatgcggt gccgctgccg cccccctccc cctctgtccg 540

gatttgggag ggagggaggg aggtgtttgc cgccaccacc gccctcccct ctctctgtag 600

ggccggatct cgggaggagg gagagggagg ccgcctccgc acagccatca acgtccgtgc 660

cgccgtcgcc tcgttcgcac caccgccgtt gcttcccctc ctccggccag atctaggagc 720

ggggaggaag agagggggag ccaccgccac cgtcgcccc tcgcgtccgc gccgtcgta 780

ccgtccacgc cgccgcgtcc gtgccgccgc tgctgctccc cctcctctgg cgaggaggga 840

gagagaggga gccgtcgcc cgccgtcgct cccctccttc ggcgaggagg gagagagggg 900

gaggaagag ggatggaggg gaggagagt gcgctgagag agagagagag agacgctgag 960

gagaggaaat gagtgggtggg gaggggtgga ggagaagata aggaggactt agattttttt 1020

ttgggtaggt atgatttttg caggcggacc acataagggt ccgcctgcga aaatcaattt 1080

tttcacgcag accacttaag aggtccgcat gcgaaaataa aggtattttt ttaggcagac 1140

6 / 6 8

ctcttaagtg gtccgcctgg aaaaattgat tttcacaagc agatgacgaa aattcacccc 1200

ggtttatatt ttccaagatg cttcatcgac gacatcgacc gcgtcctcta tgacggcaac 1260

gaccgcgtca ccgacaacgg catcgatcac gtcactacg atgacaacga ctgcatcaac 1320

tccgcatcac tattgtgatg actgttacat ggcgtagaag aaccaaccaa agtggtggcc 1380

tcacgcgcaa cgacgtcctc tgacatatgc aagacgtccc caatggcatc ctcagacatc 1440

tacaagggtgc aagatgctaa caattacagt ttttgtcttc acactgtggc ataaatattt 1500

tttttcgcct tcggctatat tcggctacac ctacaaccac ggttactaca tgatcggctc 1560

catcaacgaa catctataac aacaatcatt gacggaaaact ccagtcaaga gcgtctgtgt 1620

catcgctatc ttccatgaca ctcccgctat gactacgtga gggaatagag gagagtcaag 1680

ggacgacacg gaaggagacg taggcaccag gtggaggacc gtccatcaaa gatgcaattg 1740

atgatgggtga gttgaagaag atgaagaaat aaaagatttc aaatccagtc gcaatcgttc 1800

gcttcgctcc cgttacgact gagggggaat gttagaagca tagatatatt aattggagat 1860

aagagtcata caaatataga gataagatat catcctagag atagaattct atagataaaa 1920

7 / 6 8

tagagtccta gagataaatc tactcttact tgtacccta tatatacccc atgagaggat 1980

caatgcaata caccgagaat acaacaatta gattttttta cagttgtaac tatgatacgt 2040

tgtaatatgc tggatcgggg aagagcgccc gtaatcagtg cccagagat gtaggtctcg 2100

gctgaactcc attatcaaatt accgtacctc ggtgttgtca tcatgtttga atcttctatg 2160

acgtttcttt tgcattcggt ttctgatgtg acttcagggc tggttttata ataattgatta 2220

tagtgctgtg acggcaatcg gttgtgagaa ttagctattc gggccctcc atgtgatttt 2280

cttgtgattg ggatgtatgg taatgctagg gttttaaggt gtaggattgg tgcattgagag 2340

atcatcactt cacttgatg acctctctc cttttatatt tttttatcat tctctccttt 2400

tttttataat gctactgaac tagtggaata caggggacta atgcaaaata aaagaaaagt 2460

atcactggtc acggcataca atttagaaag tgtgtgattt aggcattagag ctgaccacga 2520

ccctttacga cttggctgct cggtttggtta gacgatagat caaccaacaa aagctacgat 2580

acatgatgta cgtgtcagga tacaattcct tacaataac aacagttatt gttcgataac 2640

ttttatcagt tgtctaggct taccaatgta taatagaaga tgaaaattcc atattactgg 2700

8 / 68

tatcgatcaa tgctagtaac tctttgagct ttgtctaggt taaaaaaaaat tatggatcca 2760

ccatcacaaa aatgaaaaac accggggaaa aaaaaaacc atttaataac agcacaagac 2820

aaaatgatgt taccgtctac ccgagctcct actccgtacc agcacaacca aacgaacagt 2880

acccgccggg tcaggggcac gttcgtaaatt ttccctcccg tggctggctg gctgccatct 2940

ctctcagcca gggttggtaa tttcggccgt ttcggtgggt cccgatagta aatgagctcc 3000

agtcaaaacg ccctctgect cccctcattg cgccacacgc acaccgcac tagatccaga 3060

togaaaaaat cgccatctcg ccgagtcgcc agtcgccgcc tcaacgccgg tcgccgtacc 3120

gccggcgctg cagccccccc tccaagccgt cgccccatcg ccccagccg cccggtggtg 3180

gggcagcgga tgccgagctt ggcgagggtg ccgaggacga accaggcgag gaggacgagg 3240

atcttgtcga cgagccagag cgggagccac gccatgagca acacggcgag ctcgaacgtg 3300

gacttgccga gcacctgcc agggaggacg tggacggcgt cgcgaccac catcgccggg 3360

agggcgctgt ggtcgcagag gtcgagcgac accaccatgc cggagttgcc gcacccgacg 3420

acgagcacct tcttgccgcg gtacgcctcg ccggacttgt agaccgcgac atgcatcacc 3480



9 / 6 8

tcgctgctat atttgttctt ggactgtgga gacttgctgt cagtgggtgt gttcagaatt 3540

gctgctgcag cttgcagcga atttgtgatg cagcagctac agcttgtatg gctgccgagt 3600

agagcgagtg ttgctatctg ttttttgttc tctttttcag aaatttcgcc cgcaaatttt 3660

aaatttgaat tcaaattttt aaaagaacta gcaaatatgc ccgtgcgttg caccgggtga 3720

atatcaaaca aatattgatg ggtaagattg cttgtgtact tataacacat atgcacaaaa 3780

atattgaata tgtacatacc tcgcaaatat ctccaaattt tatacatatg agttgtgtaa 3840

ategtgtgag ttccatattg tcatgttgat atggagtatt actgatgagc ccatctatgg 3900

tgataatttt ggaggttgta gctcaacgaa tttgtatttg ctatgtatct caacgttgat 3960

aagtcactac cacaaccatc ggcgaccttt ctcgggatcc aagcatgttg accccgccaa 4020

cgtggcgtcg gtgcagggca ccgagatgaa caccacgggg ctatgtgcct gtccagggtc 4080

atcctaggct taaggccacg aactcaagg acgtgggtgg cggcgtcgcg gaggtgctcc 4140

aagcgaacaa gctggccacc aaggaggacg ccgacaaggt ggcggccacc gctatgcaga 4200

acgatgggag gcacgccggt gacgacaagg agctaacacg atccatttag tccgatccg 4260

10/68

agttgatcag gaattcaatc ctgcaccttg cggttacgtt tttcttctcc gcgggaaaag 4320

caatcaccga tggtagggac aaagtgtgtg tgagaacgga ggccaggcca aagtgcgtgc 4380

gagaacggag gctaggccat cgctggattg gatttacgaa tgaaatatng atgtgacgaa 4440

cagaaaatta tcagtttgat ttaattttca taatcgganc tctttaatag gaaâââââat 4500

tacatgtacg ttccttcatn gtgcccatgt ccatccggga gtccaggttt attcncaaag 4560

ncncaatcaa cagctannaa tccatgtcct tccccgccgt tccctactct gctttttttt 4620

ctttcatttg aaaccttcg ctatgaattt ctagtcgttc ctagcatcca cgcacacaaa 4680

atagatttcc ctgcgaaggc aaaacataca aatatgagtg catgcaagat attacaaacc 4740

caatccatta aaaatagaac ataattaact ttagcctacc tatctcaata ttggtatatg 4800

cccaaactca aaaggagaaa aancaaacta aaacttttaa taaagtgacc ccaagagata 4860

aaaaggatgat agtaacaaca aaatctcact tgacaatgtc gttgatcagc actattttta 4920

aatattactt aaaaatcttt atattttacct attaaaacaa tgaaaaacag aagatgtttc 4980

ttttttattt acaacagcgt tgtatttagt catgtcctat ctaagagaga aaaatgaatt 5040

11 / 68

taacgaaaag aagctcagaa aaaaaaaga gaacagggcc accacaccag taatccctat 5100

gttatcaatg aaaaaaaatt tcaatgctag gttttttata agaaaagggtg ataaagtgtt 5160

gaaaaatata gcaggaaatt atatatcttg ctggtttaac attaattcaa gcatatagat 5220

ataaaaaatat atcaggctag gaaaggaaaa ggataaaatt ggagagaaaa aggaaaagaa 5280

cagtagagga taaccagcaa aaagatgaaa ggattcgaac ccatgaccta gcgttacaat 5340

tgtttcacag gctaaccaat cgagaatcat cgacgtagtg taatcttgtg tagctacatt 5400

tgaaaaaata tgttttgagc tgaacgttgg tgtgtccgcc cctgcatccg atacatgttg 5460

gagcgtggag cgcggtata tctccttctc tctcgtcgtt ttctgcgtct ccccgctctt 5520

ccttcgccaa cagccgagaa gaggcagaga gagegccgcc ccccgctcct ctctctccct 5580

ctcgtcctcg ccccatccc tctcgtcttt cccttgccgg cagcagagga ggcggcagcg 5640

acggcttcag ctgctccac gggccggatc gggcagtggc ggtggcgtcg gcggcttccg 5700

ctggcgaatc oggcgggtga atcgggtgaa atttgggtga ccccgatac aaatcagtgt 5760

tccgataggt aataccctgc tctcagcatc tgcccttttg aattcgccaa gagccagcat 5820

1 2 / 6 8

ctgccctttt gaattcgcca agggccagca tctgcccatt tgattttgaa ttcgccaaga 5880

gccagcaaca gcgccccgc gccccctccc tcttcgcaa taaacagcca cacgcgccgc 5940

ccccatgtcc accctcatcg ccacagcgca ccaccaccac caccaccacc accaccaccg 6000

tctccagcc atg gcc tcc tcc gcc tcc ctg cag cgc ttc ctc ccc ccg tac 6051

Met Ala Ser Ser Ala Ser Leu Gln Arg Phe Leu Pro Pro Tyr

1

5

10

ccc cac gcg gca gca tcc cgc tgc cgc cct ccc ggc gtc cgc gcc cgc 6099

Pro His Ala Ala Ala Ser Arg Cys Arg Pro Pro Gly Val Arg Ala Arg

15-

20

25

30

ccc gtg cag tcg tcg acg gtg tcc gca ccg tcc tcc tcg act ccg gcg 6147

Pro Val Gln Ser Ser Thr Val Ser Ala Pro Ser Ser Ser Thr Pro Ala

— 35

40

45

gcg gac gag gcc gtg tcg gcg gag cgg ctg gag ccg cgg gtg gag cag 6195

Ala Asp Glu Ala Val Ser Ala Glu Arg Leu Glu Pro Arg Val Glu Gln

50

55

60

cgg gag ggc cgg tac tgg gtg ctc aag gag aag tac cgg acg ggg ctg 6243

Arg Glu Gly Arg Tyr Trp Val Leu Lys Glu Lys Tyr Arg Thr Gly Leu

65

70

75

1 3 / 6 8

|   |      |
|---|------|
| aac ccg cag gag aag gtg aag ctg ggg aag gag ccc atg tca ttg ttc   | 6291 |
| Asn Pro Gln Glu Lys Val Lys Leu Gly Lys Glu Pro Met Ser Leu Phe   |      |
| 80                                      85                                      90  |      |
|   |      |
| atg gag ggc ggc atc aag gag ctc gcc aag atg ccc atg gag gag atc   | 6339 |
| Met Glu Gly Gly Ile Lys Glu Leu Ala Lys Met Pro Met Glu Glu Ile   |      |
| 95                                      100                                      105                                      110 |      |
|   |      |
| gag gcc gac aag ctc tcc aag gag gac atc gac gtg cgg ctc aag tgg   | 6387 |
| Glu Ala Asp Lys Leu Ser Lys Glu Asp Ile Asp Val Arg Leu Lys Trp   |      |
| 115                                      120                                      125   |      |
|   |      |
| ctc ggc ctc ttc cac cgc cgc aag cat cag t gtatgcctct cttctcttgc   | 6438 |
| Leu Gly Leu Phe His Arg Arg Lys His Gln   |      |
| 130                                      135  |      |
|   |      |
| tcctctgatac aacacatttt cttgctttcg ttcggttatt tgtcgcgccg aggaagttaa  | 6498 |
|   |      |
| ttcgccaaga tattctgcag ttttttttct cgatgcacat tcagcaacct aattaagact   | 6558 |
|   |      |
| gattaagttg ctgtgatttt tatagcttaa ttacggtctc gtgggtaatg actatttata   | 6618 |
|   |      |
| ttgagtaaac atggttacct ttgatccaat cacttcacct ccatgtgcca tatatagcca   | 6678 |
|   |      |
| caggctctac caagtaacac tagtaatatg cccgtgctac gacacgggtg cataataaat   | 6738 |

1 4 / 6 8

cattaaattt tattataatc aaattaagga tcctaaaatt ggtccaattg ggtgttaatt 6798

cgatgcaggt catataaaaa tatatitttag gcaaggtgca attcaagagc atcaaccatt 6858

atatccaatc actttaatat atatttgaag ataacatatg tcggaaaaaa aatgatggag 6918

agctatttca ttaacttgtg agcataaaca gatcaccaga tgatgccacc ataagtcccg 6978

ccacagtaag tgatgcagct catcttgccc taggcgttcg gtctaaccag tagatagaaa 7038

gagtacaaca tagatcgaat gaaaaaaaa atctccagaa gaaagctcaa ccacattgag 7098

taaattagag caacaatcaa atcgagtcag catatcgtaa tgtagcaga accaatcacc 7158

acaatttggt tctcctcttt atctaagngt tttggccagg ttaaaagcat atatcactat 7218

gttccaagca aacatcggca atggacacgt-caaaaataaa tgatcaattg tttctttgag 7278

tacaaaattg acaatggaca ctatgttcct ttgttagaat tctatttgte agggtaggat 7338

gtagaaaaac ttaactttta gaggaagctt aaatatccgg cataaacttg ctttttcagc 7398

gctctataaa ataattcaac agtgaattgt ccatcttttc taagtgtcc aaaagacact 7458

aagttgaaaa accaggtgaa ccaacagatt gatccacaaa atcttattat tagattattc 7518

1 5 / 6 8

|   |      |
|---|------|
| acttaaaagc ctgtctttat ttcaaacata taaaaacaga agttattaat caggggaagcg  | 7578 |
| cttatggcag cctgagcgaa ccagtgatag caagtgggtga aaacagtaaa taggatacat  | 7638 |
| aaaaattata caaggtttct actgtttatc gaaaaaaaaat atttgaaaac agtaaattagg | 7698 |
| atacataatc gacttccaac ttgtccttat cataacatcc agaatacaca caagaattgc   | 7758 |
| aacgaatata tagtcgactt gagctaagaa gtcacaagac ctgtcaaagt aagctgccct   | 7818 |
| tgatcttgaa gtgaaaggca tattttattg tcttccttgg caaacagata tcactgtctt   | 7878 |
| cagcagttca gttagataat ccaagatttc tcacggagaa gagcatatca ctacatcag    | 7938 |
| tgttgtgccc tccaaatact gagataaact gaattttgtt ctctttgaag catctgcagg   | 7998 |
| cattaacaat aataatactt tacaaagttt cattgggtct aaactattgt ttgcacatca   | 8058 |
| tatatatgcc cagaactttt tagcatgata caagggtcct gttcataact catgcctaaa   | 8118 |
| tctgacaaat ttgtcaaagc acaatataag tcgaattata atgcgtttta gaattgacgc   | 8178 |
| caaaactttt gctagcgtaa gtaactcttc cacctcccag catgcataca accaacaagc   | 8238 |
| taaacttttg ttcaaaaaaa tgtacattta tttccttgaa cacagccttt gtagaatatg   | 8298 |

16 / 68

attaaaaact catggatgaa tgaaataatg taaaagaatg gtcaaaatga tgaatagtag 8358

aagaagcaac tgtgaacatt tcacctttac ctgactgttc gcaagaaggc cacgtggcag 8418

aaaagccaga aatgcaagaa gcttcctaa ttgatacacc atcaagaaat caatggactc 8478

aacaccagcg tccgcccaga caaatgaat gcaggcacct aaaatataga accattgact 8538

tttcaacact gaattatata acctgaatat cttgttttgt taacacatct gacaaaatca 8598

gtgcattctg ttccatatag atgtatgcat agctcccata tgttagttga tcgatgagca 8658

tgcaaaactat acacacctta cgttactccc tctgtcaaaa aaaatataag cttgtctaga 8718

tacatagcta caaatgctta tatttttgga ttctcttaaa gctgtagaaa cttttatcgc 8778

cccgccatgg caagtcgagc tgccatcccc aatgaaagcc cccacacagg tttcatgccc 8838

tgctgcacaa tattgagcaa ccaaaaatat aataatattt gtgtcagaat ttgaatcaac 8898

cttacagata ctgggtggcc agaaaatcta gtccaagtaa tctcctgaaa aatagcaact 8958

ggcaaatact aaaggcagtg aagagtttcc tttagatcag atgataaaaa aaaatcatat 9018

gttcaatagc aataatcact cacatTTTTT ttgctgttta gaatttagat aaatagtagt 9078



17 / 68

taaacttcta tagcttgcgt agctaagatc aatgggtgatt attagttgaa aaaataatca 9138

aatcatcaaa ctgaggagac ttatacctgc cataagttct gaaatttcaa tgatcctagt 9198

caatatttac tgtatatata gaattaggtc caaaagatga tacttacaat taaggatggt 9258

gtattgatcg gttcataact caagcttcta tttatcatta atcaaaagct ggatcattca 9318

tgcatatacc ttgccgcac tcaacatagc agctcggagt cttctttggt cagaagcgag 9378

gaaggagtca acaaataagt actgcaatgt taaacaaacc gacatatcaa atcccaaatt 9438

aagaatgcat gatttattaa tacaggaaat atatgatcaa gtcccaaaaa gtgagtcatg 9498

ttatgtacac tcagtcatca atttcaataa gaatattaac ttgctcattg gtatatggat 9558

ttgattatga cataatttga caatacattt acagaataaa cttgcagtgc tgtgagcata 9618

tgttactaac atgtaaggac cttgttttgc tctgttcaat actcatgttg atcttgatct 9678

gtgtccacat atacctaaat gaaatgaaat caaagaatga ggtttgtagg agtggagttg 9738

gtgaattata gggtagataa tgtcggcaca accgtttgat aagtagtacg agtactttat 9798

ttggcgccac cgcgccagca tcagatgtgt ggcctttgca ctgattgaac ccaaaagaaa 9858

18 / 68

aaaaaaagtc gttttggtcc cacacaattc tacttcatct gcaggatgta cagaaggtta 9918

catactatt ctgttctatg ctctgtttac atttataagg gctcacttgg tggctgtcat 9978

tggttggctg gtgcggtata ttactaatag gttttttaat ggcatatatg ttcttaaaat 10038

aaaccagaaa agcaaaagat caactatctt agccacacca atgaaatgga atatactgaa 10098

ctgtcacggc taaaattctc ttcagtcacc tggcccagct ggagccgtgg gctcgtcgtc 10158

ttttctaaac atgtactagt attttggggg cccacagtga atttggccca aaatgctgac 10218

agccgctcta cggctctacg ctgtgcag at ggg cgg ttc atg atg cgg ctg 10269

Tyr Gly Arg Phe Met Met Arg Leu

140

aag ctg cca aac ggt gtg acg acg agc gag cag acg agg tac ctg gcg 10317

Lys Leu Pro Asn Gly Val Thr Thr Ser Glu Gln Thr Arg Tyr Leu Ala

145

150

155

160

agc gtg atc gag gcg tac ggc aag gag ggc tgc gcc gac gtg aca acc 10365

Ser Val Ile Glu Ala Tyr Gly Lys Glu Gly Cys Ala Asp Val Thr Thr

165

170

175

cgc cag aac tgg cag atc cgc ggc gtc acg ctc ccc gac gtg ccg gcc 10413

Arg Gln Asn Trp Gln Ile Arg Gly Val Thr Leu Pro Asp Val Pro Ala

1 9 / 6 8

180

185

190

atc ctc gac ggg ctc aac gcc gtc ggc ctc acc agc ctc cag agc ggc 10461

Ile Leu Asp Gly Leu Asn Ala Val Gly Leu Thr Ser Leu Gln Ser Gly

195

200

205

atg gac aac gtc cgc aac ccc gtc ggc aac ccg ctc gcc ggc atc gac 10509

Met Asp Asn Val Arg Asn Pro Val Gly Asn Pro Leu Ala Gly Ile Asp

210

215

220

ccc gac gag atc gtc gac acg cga tcc tac acc aac ctc ctc tcc tcc 10557

Pro Asp Glu Ile Val Asp Thr Arg Ser Tyr Thr Asn Leu Leu Ser Ser

225

230

235

240

tac atc acc agc aac ttc cag ggc aac ccc acc atc acc aac ct 10601

Tyr Ile Thr Ser Asn Phe Gln Gly Asn Pro Thr Ile Thr Asn Leu

245

250 -

gtgagtgatc gaatcaactt gatcatgctc tgtgctgtgc tggtcgtgtc gtctctgacg 10661

acatgtttgt tgaatttggt gttgctgcgt gctgttggca g g ccg agg aag tgg 10715

Pro Arg Lys Trp

aac gtg tgc gtg atc ggg tcg cac gat ctg tac gag cac ccg cac atc 10763

Asn Val Cys Val Ile Gly Ser His Asp Leu Tyr Glu His Pro His Ile

20/68

|   |     |     |     |       |
|---|-----|-----|-----|-------|
| 260   | 265 | 270 | 275 |       |
| aac gac ctc gcg tac atg ccg gcg gtg aag ggc ggc aag ttc ggg ttc   |     |     |     | 10811 |
| Asn Asp Leu Ala Tyr Met Pro Ala Val Lys Gly Gly Lys Phe Gly Phe   |     |     |     |       |
|   | 280 | 285 | 290 |       |
| aac ctc ctt gtc ggc ggg ttc atc agc ccc aag agg tgg gag gag gcg   |     |     |     | 10859 |
| Asn Leu Leu Val Gly Gly Phe Ile Ser Pro Lys Arg Trp Glu Glu Ala   |     |     |     |       |
|   | 295 | 300 | 305 |       |
| ctg ccg ctg gac gcc tgg gtc ccc ggc gac gac atc atc ccg gtg tgc   |     |     |     | 10907 |
| Leu Pro Leu Asp Ala Trp Val Pro Gly Asp Asp Ile Ile Pro Val Cys   |     |     |     |       |
|   | 310 | 315 | 320 |       |
| aag gcc gtt ctc gag gcg tac cgc gac ctc ggc acc agg ggc aac cgc   |     |     |     | 10955 |
| Lys Ala Val Leu Glu Ala Tyr Arg Asp Leu Gly Thr Arg Gly Asn Arg   |     |     |     |       |
|   | 325 | 330 | 335 |       |
| cag aag acc cgc atg atg tgg ctc atc gac gaa ctt gtgagcctcc        |     |     |     | 11001 |
| Gln Lys Thr Arg Met Met Trp Leu Ile Asp Glu Leu                   |     |     |     |       |
| 340   | 345 | 350 |     |       |
| attcatccac gccattgact gaattacgta tgtcccaatg ttcttatcag ttaattgcgg |     |     |     | 11061 |
| tggtggcatt gcag gga atg gag gct ttt cgg tcg gag gtg gag aag agg   |     |     |     | 11111 |
| Gly Met Glu Ala Phe Arg Ser Glu Val Glu Lys Arg                   |     |     |     |       |

21 / 68

355

360

atg ccg aac ggc gtg ctg gag cgc gct gcg ccg gac gac ctc atc gac 11159

Met Pro Asn Gly Val Leu Glu Arg Ala Ala Pro Asp Asp Leu Ile Asp

365

370

375

aag aaa tgg cag agg agg gac tac ctc ggc gtg cac ccg cag aag cag 11207

Lys Lys Trp Gln Arg Arg Asp Tyr Leu Gly Val His Pro Gln Lys Gln

380

385

390

395

gaa ggg atg tcc tac gtc ggc ctg cac gtg ccc gtc ggc cgg gtg cag 11255

Glu Gly Met Ser Tyr Val Gly Leu His Val Pro Val Gly Arg Val Gln

400

405

410

gcg gcg gac atg ttc gag ctc gcc cgc ctt gcc gac gag tat ggc tcc 11303

Ala Ala Asp Met Phe Glu Leu Ala Arg Leu Ala Asp Glu Tyr Gly Ser

415

420

425

ggc gag ctc cgc ctc acc gtg gag cag aac atc gtg atc ccg aac gtc 11351

Gly Glu Leu Arg Leu Thr Val Glu Gln Asn Ile Val Ile Pro Asn Val

430

435

440

aag aac gag aag gtg gag gcg ctg ctc gcc gag ccg ctg ctt cag aag 11399

Lys Asn Glu Lys Val Glu Ala Leu Leu Ala Glu Pro Leu Leu Gln Lys

445

450

455

22/68

ttc tcc ccg cag ccg tcg ctg ctg ctc aag ggc ctg gtc gcg tgc acc 11447  
 Phe Ser Pro Gln Pro Ser Leu Leu Leu Lys Gly Leu Val Ala Cys Thr  
 460 465 470 475

ggc aac cag ttc tgc ggc cag gcc atc atc gag acg aag cag cgg gcg 11495  
 Gly Asn Gln Phe Cys Gly Gln Ala Ile Ile Glu Thr Lys Gln Arg Ala  
 480 485 490

ctg ctg gtg acg tcg cag gtg gag aag ctc gtg tcg gtg ccc cgg gcg 11543  
 Leu Leu Val Thr Ser Gln Val Glu Lys Leu Val Ser Val Pro Arg Ala  
 495 500 505

gtg cgg atg cac tgg acc ggc tgc ccc aac agc tgc ggc cag gtg cag 11591  
 Val Arg Met His Trp Thr Gly Cys Pro Asn Ser Cys Gly Gln Val Gln  
 510 515 520

gtc gcc gac atc ggc ttc atg ggc tgc ctc acc aag gat agc gcc ggc 11639  
 Val Ala Asp Ile Gly Phe Met Gly Cys Leu Thr Lys Asp Ser Ala Gly  
 525 530 535

aag atc gtc gag gcg gcc gac atc ttc gtc ggc ggc cgc gtc ggc agc 11687  
 Lys Ile Val Glu Ala Ala Asp Ile Phe Val Gly Gly Arg Val Gly Ser  
 540 545 550 555

gac tcg cac ctc gcc ggc gcg tac aag aag tcc gtg ccg tgc gac gag 11735  
 Asp Ser His Leu Ala Gly Ala Tyr Lys Lys Ser Val Pro Cys Asp Glu

2 3 / 6 8

| 560   | 565 | 570 |       |
|---|-----|-----|-------|
| ctg gcg ccg atc gtc gcc gac atc ctg gtc gag cgg ttc ggg gcc gtg   |     |     | 11783 |
| Leu Ala Pro Ile Val Ala Asp Ile Leu Val Glu Arg Phe Gly Ala Val   |     |     |       |
| 575   | 580 | 585 |       |
| cgg agg gag agg gag gag gac gag gag tag gagcacagac tggggtggtt     |     |     | 11833 |
| Arg Arg Glu Arg Glu Glu Asp Glu Glu                               |     |     |       |
| 590   | 595 |     |       |
| tgcttgctcc ggtgatctct cgccgtcctt gtaaagtaga cgacaatatg ccttcgcccc |     |     | 11893 |
| tggcacgctt gtactgtcac gttttggttt gatctttag cccaaaagtt gtgttcattc  |     |     | 11953 |
| tcgttacagt cttacagagg atgattgatt gataaataaa naagaaacag attctgcaac |     |     | 12013 |
| tgttcatcgc tgttcctaaa tctgatttcg cgatagtatc ttgtctgacc tgtcccaatc |     |     | 12073 |
| gcagtgctaa aaccatataa tcttgcaagc aaatgaaatt gaaagagttc aatgcaacca |     |     | 12133 |
| ctaacggtct aacaacatga taaggcct                                    |     |     | 12161 |

&lt;210&gt; 2

&lt;211&gt; 2519

&lt;212&gt; DNA

24 / 68

&lt;213&gt; Oryza sativa

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; CDS

&lt;222&gt; (532).. (2322)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 2

tatctccttc tctctcgtcg cttctcgcgt ctccccgtct ctctctcgcc aacagccgag 60

aagaggcaga gagagcgccg ccccccgctc ctctctctcc ctctcgctct cgccccatc 120

cctctcgtct ttcccttgcc ggcagcagag gaggcggcag cgacggcttc agctgctccc 180

acgggccgga tcgggcagtg gcggtggcgt cggcggcttc cgctggcgaa tccggcgggt 240

gaatcgggtg aaatttggtg gacccccgat acaaatcagt gttccgatag-gtaataccct 300

gctctcagca tctgcccttt tgaattcgcc aagagccagc atctgccctt ttgaattcgc 360

caagggccag catctgcca tttgattttg aattcgccaa gagccagcaa cagcgccccc 420

gcgccccctc cctcctccgc aataaacagc cacacgcgcc gccccatgt ccaccctcat 480

cgccacagcg caccaccacc accaccacca ccaccaccac cgtctccagc c atg gcc 537

Met Ala



25 / 68

1

tcc tcc gcc tcc ctg cag cgc ttc ctc ccc ccg tac ccc cac gcg gca 585

Ser Ser Ala Ser Leu Gln Arg Phe Leu Pro Pro Tyr Pro His Ala Ala

5

10

15

gca tcc cgc tgc cgc cct ccc gcc gtc cgc gcc cgc ccc gtg cag tcg 633

Ala Ser Arg Cys Arg Pro Pro Gly Val Arg Ala Arg Pro Val Gln Ser

20

25

30

tcg acg gtg tcc gca ccg tcc tcc tcg act ccg gcg gcg gac gag gcc 681

Ser Thr Val Ser Ala Pro Ser Ser Ser Thr Pro Ala Ala Asp Glu Ala

35

40

45

50

gtg tcg gcg gag cgg ctg gag ccg cgg gtg gag cag cgg gag gcc cgg 729

Val Ser Ala Glu Arg Leu Glu Pro Arg Val Glu Gln Arg Glu Gly Arg

55

60

65

tac tgg gtg ctc aag gag aag tac ccg acg ggg ctg aac ccg cag gag 777

Tyr Trp Val Leu Lys Glu Lys Tyr Arg Thr Gly Leu Asn Pro Gln Glu

70

75

80

aag gtg aag ctg ggg aag gag ccc atg tca ttg ttc atg gag gcc gcc 825

Lys Val Lys Leu Gly Lys Glu Pro Met Ser Leu Phe Met Glu Gly Gly

85

90

95

26 / 68

atc aag gag ctc gcc aag atg ccc atg gag gag atc gag gcc gac aag 873

Ile Lys Glu Leu Ala Lys Met Pro Met Glu Glu Ile Glu Ala Asp Lys

100

105

110

ctc tcc aag gag gac atc gac gtg cgg ctc aag tgg ctc ggc ctc ttc 921

Leu Ser Lys Glu Asp Ile Asp Val Arg Leu Lys Trp Leu Gly Leu Phe

115

120

125

130

cac cgc cgc aag cat cag tat ggg cgg ttc atg atg cgg ctg aag ctg 969

His Arg Arg Lys His Gln Tyr Gly Arg Phe Met Met Arg Leu Lys Leu

135

140

145

coa aac ggt gtg acg acg agc gag cag acg agg tac ctg gcg agc gtg 1017

Pro Asn Gly Val Thr Thr Ser Glu Gln Thr Arg Tyr Leu Ala Ser Val

150

155

160

atc gag gcg tac ggc aag gag ggc tgc gcc gac gtg aca acc cgc cag 1065

Ile Glu Ala Tyr Gly Lys Glu Gly Cys Ala Asp Val Thr Thr Arg Gln

165

170

175

aac tgg cag atc cgc ggc gtc acg ctc ccc gac gtg ccg gcc atc ctc 1113

Asn Trp Gln Ile Arg Gly Val Thr Leu Pro Asp Val Pro Ala Ile Leu

180

185

190

gac ggg ctc aac gcc gtc ggc ctc acc agc ctc cag agc ggc atg gac 1161

Asp Gly Leu Asn Ala Val Gly Leu Thr Ser Leu Gln Ser Gly Met Asp

27 / 68

|   |     |     |     |      |
|---|-----|-----|-----|------|
| 195   | 200 | 205 | 210 |      |
| aac gtc cgc aac ccc gtc ggc aac ccg ctc gcc ggc atc gac ccc gac |     |     |     | 1209 |
| Asn Val Arg Asn Pro Val Gly Asn Pro Leu Ala Gly Ile Asp Pro Asp |     |     |     |      |
|   | 215 | 220 | 225 |      |
| gag atc gtc gac acg cga tcc tac acc aac ctc ctc tcc tcc tac atc |     |     |     | 1257 |
| Glu Ile Val Asp Thr Arg Ser Tyr Thr Asn Leu Leu Ser Ser Tyr Ile |     |     |     |      |
|   | 230 | 235 | 240 |      |
| acc agc aac ttc cag ggc aac ccc acc atc acc aac ctg ccg agg aag |     |     |     | 1305 |
| Thr Ser Asn Phe Gln Gly Asn Pro Thr Ile Thr Asn Leu Pro Arg Lys |     |     |     |      |
|   | 245 | 250 | 255 |      |
| tgg aac gtg tgc gtg atc ggg tcg cac gat ctg tac gag cac ccg cac |     |     |     | 1353 |
| Trp Asn Val Cys Val Ile Gly Ser His Asp Leu Tyr Glu His Pro His |     |     |     |      |
| 260   | 265 | 270 |     |      |
| atc aac gac ctc gcg tac atg ccg gcg gtg aag ggc ggc aag ttc ggg |     |     |     | 1401 |
| Ile Asn Asp Leu Ala Tyr Met Pro Ala Val Lys Gly Gly Lys Phe Gly |     |     |     |      |
| 275   | 280 | 285 | 290 |      |
| ttc aac ctc ctt gtc ggc ggg ttc atc agc ccc aag agg tgg gag gag |     |     |     | 1449 |
| Phe Asn Leu Leu Val Gly Gly Phe Ile Ser Pro Lys Arg Trp Glu Glu |     |     |     |      |
|   | 295 | 300 | 305 |      |

28 / 68

gcg ctg ccg ctg gac gcc tgg gtc ccc ggc gac gac atc atc ccg gtg 1497  
 Ala Leu Pro Leu Asp Ala Trp Val Pro Gly Asp Asp Ile Ile Pro Val  
 310 315 320

tgc aag gcc gtt ctc gag gcg tac cgc gac ctc ggc acc agg ggc aac 1545  
 Cys Lys Ala Val Leu Glu Ala Tyr Arg Asp Leu Gly Thr Arg Gly Asn  
 325 330 335

cgc cag aag acc cgc atg atg tgg ctc atc gac gaa ctt gga atg gag 1593  
 Arg Gln Lys Thr Arg Met Met Trp Leu Ile Asp Glu Leu Gly Met Glu  
 340 345 350

gct ttt cgg tcg gag gtg gag aag agg atg ccg aac ggc gtg ctg gag 1641  
 Ala Phe Arg Ser Glu Val Glu Lys Arg Met Pro Asn Gly Val Leu Glu  
 355 360 365 370

cgc gct gcg ccg gac gac ctc atc gac aag aaa tgg cag agg agg gac 1689  
 Arg Ala Ala Pro Asp Asp Leu Ile Asp Lys Lys Trp Gln Arg Arg Asp  
 375 380 385

tac ctc ggc gtg cac ccg cag aag cag gaa ggg atg tcc tac gtc ggc 1737  
 Tyr Leu Gly Val His Pro Gln Lys Gln Glu Gly Met Ser Tyr Val Gly  
 390 395 400

ctg cac gtg ccc gtc ggc cgg gtg cag gcg gcg gac atg ttc gag ctc 1785  
 Leu His Val Pro Val Gly Arg Val Gln Ala Ala Asp Met Phe Glu Leu

29/68

|   |     |     |      |
|---|-----|-----|------|
| 405   | 410 | 415 |      |
| gcc cgc ctt gcc gac gag tat ggc tcc ggc gag ctc cgc ctc acc gtg |     |     | 1833 |
| Ala Arg Leu Ala Asp Glu Tyr Gly Ser Gly Glu Leu Arg Leu Thr Val |     |     |      |
| 420   | 425 | 430 |      |
| gag cag aac atc gtg atc ccg aac gtc aag aac gag aag gtg gag gcg |     |     | 1881 |
| Glu Gln Asn Ile Val Ile Pro Asn Val Lys Asn Glu Lys Val Glu Ala |     |     |      |
| 435   | 440 | 445 | 450  |
| ctg ctc gcc gag ccg ctg ctt cag aag ttc tcc ccg cag ccg tcg ctg |     |     | 1929 |
| Leu Leu Ala Glu Pro Leu Leu Gln Lys Phe Ser Pro Gln Pro Ser Leu |     |     |      |
|   | 455 | 460 | 465  |
| ctg ctc aag ggc ctg gtc gcg tgc acc ggc aac cag ttc tgc ggc cag |     |     | 1977 |
| Leu Leu Lys Gly Leu Val Ala Cys Thr Gly Asn Gln Phe Cys Gly Gln |     |     |      |
| 470   | 475 | 480 |      |
| gcc atc atc gag acg aag cag cgg gcg ctg ctg gtg acg tcg cag gtg |     |     | 2025 |
| Ala Ile Ile Glu Thr Lys Gln Arg Ala Leu Leu Val Thr Ser Gln Val |     |     |      |
| 485   | 490 | 495 |      |
| gag aag ctc gtg tcg gtg ccc cgg gcg gtg cgg atg cac tgg acc ggc |     |     | 2073 |
| Glu Lys Leu Val Ser Val Pro Arg Ala Val Arg Met His Trp Thr Gly |     |     |      |
| 500   | 505 | 510 |      |

30 / 68

tgc ccc aac agc tgc ggc cag gtg cag gtc gcc gac atc ggc ttc atg 2121  
 Cys Pro Asn Ser Cys Gly Gln Val Gln Val Ala Asp Ile Gly Phe Met  
 515 520 525 530

ggc tgc ctc acc aag gac agc gcc ggc aag atc gtc gag gcg gcc gac 2169  
 Gly Cys Leu Thr Lys Asp Ser Ala Gly Lys Ile Val Glu Ala Ala Asp  
 535 540 545

atc ttc gtc ggc ggc cgc gtc ggc agc gac tcg cac ctc gcc ggc gcg 2217  
 Ile Phe Val Gly Gly Arg Val Gly Ser Asp Ser His Leu Ala Gly Ala  
 550 555 560

tac aag aag tcc gtg ccg tgc gac gag ctg gcg ccg atc gtc gcc gac 2265  
 Tyr Lys Lys Ser Val Pro Cys Asp Glu Leu Ala Pro Ile Val Ala Asp  
 565 570 575

atc ctg gtc gag cgg ttc ggg gcc gtg cgg agg gag agg gag gag gac 2313  
 Ile Leu Val Glu Arg Phe Gly Ala Val Arg Arg Glu Arg Glu Glu Asp  
 580 585 590

gag gag tag gagcacagac tggggtgggtt tgcttgctcc ggtgatctct 2362  
 Glu Glu  
 595

cgccgtcctt gtaaagtaga cgacaatatg ccttcgccca tggcacgctt gtactgtcac 2422

31/68

gttttggttt gatctttag cccaaaagtt gtgttcattc tcgttacagt ctacagagg 2482

atgattgatt gataaataaa gaagaaacag attctgc 2519

&lt;210&gt; 3

&lt;211&gt; 596

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Oryza sativa

&lt;400&gt; 3

Met Ala Ser Ser Ala Ser Leu Gln Arg Phe Leu Pro Pro Tyr Pro His

1 - 5 10 15

Ala Ala Ala Ser Arg Cys Arg Pro Pro Gly Val Arg Ala Arg Pro Val

20 25 30

Gln Ser Ser Thr Val Ser Ala Pro Ser Ser Ser Thr Pro Ala Ala Asp

35 40 45

Glu Ala Val Ser Ala Glu Arg Leu Glu Pro Arg Val Glu Gln Arg Glu

50 55 60

Gly Arg Tyr Trp Val Leu Lys Glu Lys Tyr Arg Thr Gly Leu Asn Pro

65 70 75 80

3 2 / 6 8

Gln Glu Lys Val Lys Leu Gly Lys Glu Pro Met Ser Leu Phe Met Glu

85

90

95

Gly Gly Ile Lys Glu Leu Ala Lys Met Pro Met Glu Glu Ile Glu Ala

100

105

110

Asp Lys Leu Ser Lys Glu Asp Ile Asp Val Arg Leu Lys Trp Leu Gly

115

120

125

Leu Phe His Arg Arg Lys His Gln Tyr Gly Arg Phe Met Met Arg Leu

130

135

140

Lys Leu Pro Asn Gly Val Thr Thr Ser Glu Gln Thr Arg Tyr Leu Ala

145

150

155

160

Ser Val Ile Glu Ala Tyr Gly Lys Glu Gly Cys Ala Asp Val Thr Thr

165

170

175

Arg Gln Asn Trp Gln Ile Arg Gly Val Thr Leu Pro Asp Val Pro Ala

180

185

190

Ile Leu Asp Gly Leu Asn Ala Val Gly Leu Thr Ser Leu Gln Ser Gly

195

200

205

Met Asp Asn Val Arg Asn Pro Val Gly Asn Pro Leu Ala Gly Ile Asp

210

215

220



3 3 / 6 8

Pro Asp Glu Ile Val Asp Thr Arg Ser Tyr Thr Asn Leu Leu Ser Ser  
225 230 235 240

Tyr Ile Thr Ser Asn Phe Gln Gly Asn Pro Thr Ile Thr Asn Leu Pro  
245 250 255

Arg Lys Trp Asn Val Cys Val Ile Gly Ser His Asp Leu Tyr Glu His  
260 265 270

Pro His Ile Asn Asp Leu Ala Tyr Met Pro Ala Val Lys Gly Gly Lys  
275 280 285

Phe Gly Phe Asn Leu Leu Val Gly Gly Phe Ile Ser Pro Lys Arg Trp  
290 295 300

Glu Glu Ala Leu Pro Leu Asp Ala Trp Val Pro Gly Asp Asp Ile Ile  
305 310 315 320

Pro Val Cys Lys Ala Val Leu Glu Ala Tyr Arg Asp Leu Gly Thr Arg  
325 330 335

Gly Asn Arg Gln Lys Thr Arg Met Met Trp Leu Ile Asp Glu Leu Gly  
340 345 350

Met Glu Ala Phe Arg Ser Glu Val Glu Lys Arg Met Pro Asn Gly Val

3 4 / 6 8

355

360

365

Leu Glu Arg Ala Ala Pro Asp Asp Leu Ile Asp Lys Lys Trp Gln Arg

370

375

380

Arg Asp Tyr Leu Gly Val His Pro Gln Lys Gln Glu Gly Met Ser Tyr

385

390

395

400

Val Gly Leu His Val Pro Val Gly Arg Val Gln Ala Ala Asp Met Phe

405

410

415

Glu Leu Ala Arg Leu Ala Asp Glu Tyr Gly Ser Gly Glu Leu Arg Leu

420

425

430

Thr Val Glu Gln Asn Ile Val Ile Pro Asn Val Lys Asn Glu Lys Val

435

440

445

Glu Ala Leu Leu Ala Glu Pro Leu Leu Gln Lys Phe Ser Pro Gln Pro

450

455

460

Ser Leu Leu Leu Lys Gly Leu Val Ala Cys Thr Gly Asn Gln Phe Cys

465

470

475

480

Gly Gln Ala Ile Ile Glu Thr Lys Gln Arg Ala Leu Leu Val Thr Ser

485

490

495

3 5 / 6 8

Gln Val Glu Lys Leu Val Ser Val Pro Arg Ala Val Arg Met His Trp

500

505

510

Thr Gly Cys Pro Asn Ser Cys Gly Gln Val Gln Val Ala Asp Ile Gly

515

520

525

Phe Met Gly Cys Leu Thr Lys Asp Ser Ala Gly Lys Ile Val Glu Ala

530

535

540

Ala Asp Ile Phe Val Gly Gly Arg Val Gly Ser Asp Ser His Leu Ala

545

550

555

560

Gly Ala Tyr Lys Lys Ser Val Pro Cys Asp Glu Leu Ala Pro Ile Val

565

570

575

Ala Asp Ile Leu Val Glu Arg Phe Gly Ala Val Arg Arg Glu Arg Glu

580

585

590

Glu Asp Glu Glu

595

&lt;210&gt; 4

&lt;211&gt; 12179

&lt;212&gt; DNA

&lt;213&gt; Oryza sativa

36 / 68

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; exon

&lt;222&gt; (6001)..(6409)

&lt;223&gt;

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; exon

&lt;222&gt; (10255)..(10609)

&lt;223&gt;

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; exon

&lt;222&gt; (10712)..(11000)

&lt;223&gt;

&lt;220&gt;

&lt;221&gt; exon

&lt;222&gt; (11094)..(11831)

&lt;223&gt;

&lt;400&gt; 4

ctcgagcttt tttgactgcc ctaatcaggc gggttccttg tgggaccac ataatgcttt 60

ttttaatgcg cttcacgggc tgcattgcaa ctatacggcg tgggtacttcc actactagaa 120

37 / 68

aaaacgggct ttctgcaggc gggcaaacct tccgcatgta tattaacgac cgtaaaaatc 180

tccaattttc acaggtggac cccagcaccg cctgcgaaaa taattttcgc aggctgcatt 240

tcgaatcttc ctgggtgcta cagtaaacca cctgcgaaaa tactcacggc gccaaaaaaa 300

aaattttcgc cagccccgcc cctccctat tcaaatacaca aattctcaca aatctcatcc 360

aaaaacaaaa ttcaatccaa aaatccatac atcaacacaa agcattggat tcaaatccac 420

aacatcaatt tacaagttaa catcaatcaa catgtaagct ttaaaacgaa acgtcgtcgt 480

cgccggcaaa ctcttttgc atgcggtgcc gccgccgcc cctcccccc tctgtccgga 540

tttgggaggg agggaggtgt ttgccgccac caccgccctc cctctcctc gtagggccgg 600

atctcgggag ggaggagagg ggagccgcct ccgcacagcc atcaacgtcc gtgccgccgt 660

cgctcgttc gcaccaccgc cgttgcttcc cctcctccgg ccagatctag gagcggggag 720

gaagagaggg ggagccaccg ccaccgtcgc cccctcgcgt ccgcgccgtc gtcaccgtcc 780

acgccgccgc gtccgtgccg ccgtgtcgc tccccctcct ctggcgagga gggagagaga 840

gggagccgtc gcgccgccgt cgctccctc cttcggcgag gagggagaga gggggaggga 900

38 / 68

agagggatgg aggggaggag agtggcgctg agagagagag agagagacgc tgaggagagg 960

aaatgagtgg tggggagggg tggaggagaa gataaggagg acttagattt ttttttggg 1020

taagtatgat ttttgcaggc ggaccacata aggttccgcc tgcgaaaatc aattttttcg 1080

cgcagaccac ttaagaggtc cgcatgcgaa aataaaggta tttttttagg cggacctctt 1140 (

aagtgggccg cctggaaaaa ttgattttcg caagcggatg acgaaaattc accccggttt 1200

atattttcga agatgcttca tcgacgacat cgactgcgtc ctctatgaca gcaacgaccg 1260

cgtcaccgac gacggcatcg atcacgtcat ctacgatgac aatgactgca tcaactccgc 1320

atcactattg tgatgactgt tacacggcgt agaagaacca accaaagtgg tggttcac 1380

gccaacgacg tcctctaaca tatgcaagac gtccccaatg gcatcctctg acatctacaa 1440 (

ggtgcaagat gctaacaatt acagtttttg tcttcacact gtggcataaa tatttttttt 1500

caccttcggc tatatgcggc tacacctaca accacgggta ctacatgac ggctccatca 1560

acgaacatct ataacaacaa tcattgatgg aaactctagt caaagcgtct gtgtcatcgc 1620

tatcatccat gacactcccg ctatgactac gtgagggaat agataagagt caagggacga 1680

39 / 68

cacggaagga gacgtaggca ccaggtggag gaccatccat caaagatgca attgatgatg 1740

gtgagttgaa gaagatgaag aaataaaata tttcaaatcc agtcgcaatc attcgcttcg 1800

ctcccgttac gactgagggg gaatgttaga agcatagata tattaattgg agataagagt 1860

catacaaata tagagataag atatcatcct agagatagaa tcctagagat aaaatatagt 1920

cctagagata aatctactct tacttgtacc cctatatata ccccatgaga ggatcaatgc 1980

aatacaccga gaatacaaca attagatfff tctacgggtg taactataat acgctgtaat 2040

atgctggatc ggggaagagc gcccgtaatc agtgccccag agatgtaggt ctcggttgaa 2100

ctccattatc aaataaccgta cctcggtgtc gtcacatgt ttgaatcttc tatgacgttt 2160

cttttgcatc cggttttcga tgtgacttcg gggctggttt tataacaatg attatagtgc 2220

tgttgacggc aatcggttgt gagaattagc tattegggtc cctccatgtg attttcttgt 2280

gattgggatg tatggtaatg ctagggtttt aagggttagg attggtgcat gagagatcat 2340

cacttcactt gtatgacctt ctctcctttt atatfttttt atcattctct cttttttttt 2400

ataatgctac tgaactagtg gaatacaggg gactaatgca aaataaaaga aaagtatcac 2460

40 / 68

tggtcacggc atataattta gaaagtgtgt gatttaggca tagggctgac catgaccctt 2520

tacgacttgg tcgctcgggt tgttagaaga tagatcaacc aacaaaagct acgatacatg 2580

atgtacgtgt caggatacaa atccttacaataaacaacag ttattgttcg ataactatca 2640

gttgtctagg cttaccaatg tataatagaa gatgaaaatt ccatattact ggtatcgttc 2700

aatgctagta actctttgag ctttgtctag gttaaaaaaa aaattatgga tccaccatca 2760

caaaaatgaa aaacaccggg gaaaacaaaa aaccatttga tagcagcaca agacaaaatg 2820

atgttaccgt ctacccgagc tectactccg taccagcaca accaaacgaa cagtaccgcg 2880

cggaccaggg gcacgttcgt aaatttcctt cccgtggctg gctggctgcc atctctctca 2940

accagggttg gtaatttcgg ccgtttcggg gggccccgat agtaaagtag ctccgggtcaa 3000

aacgccctcc gcctccccctc attgcgcgcg acgcacaccg catctagatc cagatcgaaa 3060

aaatcgctat ctgcgcgagt cgccagtcac cgctcgacg ccggtcgccg taccgccggc 3120

gctgcacgcc cccctccaag ccgtcgcccc atcgccccca gccgccaggt ggtggggcgg 3180

cggatgccga gcttggcgag gttgccgagg acgaaccagg cgaggaggac gaggatcttg 3240



41 / 68

tcgacgagcc agagcgggag ccacgccatg agcaacacgg cgagctcgaa cgtggacttg 3300

ccgagcacct cgccagggag gacgtggacg gcgtcgcgca ccaccatcgc cgggagggcg 3360

ctgtggtcgc acaggtcgag cgacaccacc atgccggagt tgccgcaccc gacgacgagc 3420

accttcttgc cgcggtacgc ctgcgccgac ttgtagaccg cgacatgcat cacctcgtctg 3480

ctatatattgt tcttggactg tggagacttg ctgtcagtgg gtgtgttcag aattgctgct 3540

gcagcttgca gcgaatttgt gatgcagcag ctgcagcttg tatggctgcc gagtagagcg 3600

agtgttgcta tctgtttttg ttctcttttt cagaaatttc gcccgcaaatt tttaaatttg 3660

aattcaaatt tttaaaagaa ctagaaaata tgcccgtgcg ttgcaccggg tgaatatcaa 3720

acaaatattg atgggtaaga ttgcttgtgt acttataaca catatgcaca aaaatattga 3780

atatgtacat acctcgcaaa tatctccaaa ttttatacat atgagttgtg taaatcatgt 3840

gagttccata ttgtcatggt aatatggagt attactgatg agcccatcta tggtgataat 3900

tttggagggt gtagctcaac gaatttgtat ttgctatgta tctcaacgtt gataagtcac 3960

tactacaacc atcggcgacc tttctcgga tccaagcatg tcgaccccgcc caacgtggcg 4020

42 / 68

tcggtgcagg gcaccgagat gaacaccacg gggctatttg cctgtccagg gtcctcctag 4080

gcttaaggcc acgacactca aggacgtggt aggcggcgtc acagaggtgc tcccagcgaa 4140

caagctggcc accaaggagg acgccgacaa ggtggcggcc accgctatgc agaaacgatg 4200

ggaggcatgc cgggtgacgac aaggagctaa cacgatccat ttagtcccga tccgagttaa 4260

tcaggaattc aatcctgcac cgtgcggtta cgtttttctt ttccgcggga aaagcaatca 4320

ccgatggtag ggacaaagtg cgtgtgagaa cagaggccag gccaaagtgc gtgcgagAAC 4380

ggaggctagg ccatcgctgg attggattta cgaatgaaat atcgatgtga cgaacagaaa 4440

attatcagtt tgatttaatt ttcataatca gaactcttta ataggaaaaa aattacatgt 4500

acgttccttc atcgtgccca tgtccatctg ggagtccagg tttattcaca aagaccAat 4560

caacagccag gaatccatgt ccttccccgc cgttccttac tctgtttttt tttctttcat 4620

ttgaaacctt ccgctatgaa tttctagtcg ttcttagcat ccacgcacac aaaatagatt 4680

tccctcgcaa ggcaaaacat acaaatatga gtgcatgcaa gatattacaa acccaatcca 4740

ttaaaaatag aaaataatta actttagcct acctatctca atattggtat atgcccaaac 4800

43 / 68

tcaaaaggag aaaaaccaa ctaaaacttt taataaagtg aaccaagag ataaaaaggt 4860

gatagtaaca acaaaatctc acttgacaat gtcgttaatc aacactgttt ttaaatatta 4920

cttaaaaatc tttatattta cctattaaaa caatgaaaaa cagaagatgt ttctttttta 4980

tttacaacag cgttgtattt agtcatgtcc tatctaagag agaaaaatga atttaacgaa 5040

aagaagctca gaaaaaaaaa gagaacaggg ccaccacacc agtaatccct atgttatcaa 5100

tgaaaaaaaa tttcaatgct aggtttttta taagaaaagg tgataaagtg ttgaaaaaat 5160

acagcaggaa attatatatc ttgctggttt aacatgaatt caagcatata gatataaaaa 5220

tatatcaggc taggaaagga aaaggataaa attggagaga aaaaggaaaa gaacagtaga 5280

ggataaccag caaaaagatg aaaggattcg aacccatgac ctagcggtac aattgtttca 5340

caggctaacc aattgagaat catcgacgtt gtgtcatctt gtgtagctac atttgaaaaa 5400

atatgttttg agctgaacgt tgggtgtgtcc gcccctgcat ccgatacatg ttggagcgtg 5460

gagcgcggtg aagaaaaaat cctatcgaac cttatctcct tctctctcgt cgctttctgc 5520

gtctccccgt ctctccttcg ccaacagccg agaagaggca gagagagcgc cgccccccgt 5580

44/68

ccctctctct ccctctctgc ctgccccca tccctctcgt ctttcccttg ccggcagcag 5640

aggaggcggc agcgacggct tcagctgctc ccacgggccg gatcgggcag tggcgggtggc 5700

gtcggcggct tccgctggcg aatccggcgg gtggatacaa atcagtgttc cgataggtaa 5760

aaccctgctc tcagcatctg cccttttgaa ttgcgaaga gccagcatct gcccttttga 5820

attcgccaag ggccagcacc tgcccatttg attttgaatt cgccaagagc cagcaacagc 5880

gccccgcgc cccctccctc ctccgcaata aacagccaca cgcgcgcgcc ccatgtccac 5940

cctcatcgcc acagcgcacc accaccacca ccaccaccac caccaccacc gtctccagcc 6000

atg gcc tcc tcc gcc tcc ctg cag cgc ttc ctc ccc ccg tac ccc cac 6048

Met Ala Ser Ser Ala Ser Leu Gln Arg Phe Leu Pro Pro Tyr Pro His

1 5 10 15

gcg gca gca tcc cgc tgc cgc cct ccc gcc gtc cgc gcc cgc ccc gtg 6096

Ala Ala Ala Ser Arg Cys Arg Pro Pro Gly Val Arg Ala Arg Pro Val

20 25 30

cag tcg tcg acg gtg tcc gca ccg tcc tcc tcg act ccg gcg gcg gac 6144

Gln Ser Ser Thr Val Ser Ala Pro Ser Ser Ser Thr Pro Ala Ala Asp

35 40 45

4 5 / 6 8

gag gcc gtg tgc gcg gag cgg ctg gag ccg cgg gtg gag cag cgg gag 6192  
 Glu Ala Val Ser Ala Glu Arg Leu Glu Pro Arg Val Glu Gln Arg Glu  
 50 55 60

ggc cgg tac tgg gtg ctc aag gag aag tac cgg acg ggg ctg aac ccg 6240  
 Gly Arg Tyr Trp Val Leu Lys Glu Lys Tyr Arg Thr Gly Leu Asn Pro  
 65 70 75 80

cag gag aag gtg aag ctg ggg aag gag ccc atg tca ttg ttc atg gag 6288  
 Gln Glu Lys Val Lys Leu Gly Lys Glu Pro Met Ser Leu Phe Met Glu  
 85 90 95

ggc gcc atc aag gag ctc gcc aag atg ccc atg gag gag atc gag gcc 6336  
 Gly Gly Ile Lys Glu Leu Ala Lys Met Pro Met Glu Glu Ile Glu Ala  
 100 105 110

gac aag ctc tcc aag gag gac atc gac gtg cgg ctc aag tgg ctc ggc 6384  
 Asp Lys Leu Ser Lys Glu Asp Ile Asp Val Arg Leu Lys Trp Leu Gly  
 115 120 125

ctc ttc cac cgc cgc aag cat cag t gtagcctct cttctcttgc 6429  
 Leu Phe His Arg Arg Lys His Gln  
 130 135

tcctctgac aacacatttt cttgctttcg ttcggttatt tgcgcgccg aggaagttaa 6489

46 / 68

ttcgccaaga tattctgcag ttttttttct cgatgcacat tcagcaacct aattaagact 6549

gattaagttg ctgtgatttt tatagcttaa ttacggtctc gtgggtaatg actatttata 6609

ttgagtaaac atggttacct ttgatccaat cacttcacct ccatgtgccca tatatagcca 6669

caggctctac caagtaacac tagtaatatg cctgtgatac gccacggtgg cataataaat 6729

cattaaattt tattataatc aaattaagga tcctaaaatt ggtccaattg ggtgttaatt 6789

cgatgcaggt catataaaaa tatattttag gcaaggtgca attcaagagc atcaaccatt 6849

atatccaatc actttaatat atatttgaag ataacatatg tcggaaaaaa aatgatggag 6909

agctatttca ttaacttgtg agcataaaca gatcaccaga tgatgccacc ataagtcctg 6969

ccacagtaag tgatgcagct catcttgccc taggcgttcg gtctaaccag tagatagaaa 7029

gagtacaaca tagatcgaat gaaaaaaaaa atctccagaa gaaagctcaa ccacattgag 7089

taaattagag caacaatcaa atcgagtcag catatcgtaa tgtagcaga accaatcacc 7149

acaatttggt tctcctcttt atctaagtgt ttgcccaggt taaaagcata taccactatg 7209

ttccaagcaa acatcggcaa tggacatgtc aaaaataaat gatcaattgt ttctttgagt 7269

47 / 68

acaaaattga caatggacac tatgttcctt tgtagaatt ctatttgtca gggtaggatg 7329

tagaaaaact taacttttag aggaagctta aatatccggc ataaacttgc tttttcagcg 7389

ctctataaaa taattcaaca gtgaattgtc catcttttct aagtgotcca aaagacacta 7449

agttgaaaaa ccaggtgaac caacagattg atccacaaaa tcttattatt agattattca 7509

cttaaaagcc tgtctttatt tcaaacatat aaaaacagaa gttattaatc agggaagcgc 7569

ttatggcagc ctgagcgaac cagtgatagc aagtggtgaa aacagtaa at aggatacata 7629

aaaattatac aaggtttcta ctgtttatca aaaaaaata ttgaaaaca gtaa atagga 7689

tacataatcg acttccaact tgtccttate ataacatcca gaatcacaac aagaattgca 7749

acgaatacat agtcgacttg agctaagaag tcacaagacc tgtcaaagta agctgccctt 7809

gatcttgaag tgaaaggcat attttattgt cttccttggc aaacagatat cactgtcttc 7869

agcagttcag ttagataatc caagatttct cacggagaag agcatatcac tcgcatcagt 7929

gttgtgccct ccaaatactg agataaactg aattttgttc tctttgaagc atctgcaggc 7989

attaacaatt ataatacttt acaaagtttc attgggtcta aactattgtt tgcacatcat 8049

48 / 68

atatatgccc agaacttttt agcatgatac aagggtcctg ttcataactc atgcctaaat 8109

ctgacaaatt tgtcaaacga caatataagt cgaattataa tgcgttttag aattgacgcc 8169

aaaacttttg ctagegtaag taactcttcc acctcccagc atgcatacaa ccaacaagct 8229

aaacttttgt tcaaaaaaat gtacatttat ttccttgaac acagcctttg tagaatatga 8289

ttaaaaactc atggatgaat gaaataatgt aaaagaatgg tcaaaatgat gaatagtaca 8349

agaagcaact gtgaacatth cacctttacc tgactgttcg caagaaggcc acgtggcaga 8409

aaagccagaa atgcaagaag cttccctaata tgatacacca tcaagaaatc aatggactca 8469

acaccagcgt ctgcccagac aaaatgaatg caggcaccta aaatatagaa ccattgactt 8529

ttcaacactg aattatataa cctgaatata ttgttttttt aacacatctg acaaaatcag 8589

tgcattctgt tccatataga tgtatgcata gctcccatat gttagttagat cgatgagcat 8649

gcaaaactata cacaccttac gttactccct ctgtcaaaaa aaatataagc ttgtctagat 8709

acatagctac aaatgcttat atttttggat tctcttaaag ctgtagaaac ttttatcgcc 8769

ccgccatggc aagtcgagat gccatcccca atgaaagccc ccacacaggt ttcatgccct 8829



49 / 68

gctgcacaat attgagcaac caaaaatata ataatatattg tgcagaatt tgaatcaacc 8889

ttacagatac tgggtggcca gaaaatctag tccaagtaat atcctgaaaa atagcaactg 8949

gcaaatacta aaggcagtga agagtttcct ttagatcaga tgataaaaaa aaatcatatg 9009

ttcaatagca ataatcactc acatTTTTTT tgctgttttag aatttagata attagtagtt 9069

aaacttctat agcttgcgta gctaagatca atggtgatta ttagttgaaa aaataatcaa 9129

atcatcaaac tgaggagact tatacctgcc ataagttctg aaatttcaat gatcctagtc 9189

aatatttact gtatatatag aattaggtcc aaaagatgat acttacaatt aaggatgttg 9249

tattgatcgg ttcataactc aagcttctat ttatcattaa tcaaaagctg gatcattcat 9309

gcatatacct ttgccgcact caacgtagca gctcggagtc ttctttgttc agaagcgagg 9369

aaggagtcaa caaataagta ctgcaatgtt aaacaaaccg acatatcaaa tcccaaatta 9429

agaatgcatg atttattaat acaggaaata tatgatcaag tcccaaaaag tgagtcatgt 9489

tatgtacact cagtcatcaa tttcaataag aatattaact tgctcattgg tatatggatt 9549

tgattatgac ataatttgac aatacattta cagaataaac ttgcagtgct gtgagcatat 9609

50/68

gttactaaca tgtaaggacc ttgttttgct ctgttcaata ctcatgttga tcttgatctg 9669

tgtccacata tacctaaatg aaatgaaatc aaagaatgag gtttgtagga gtggagttgg 9729

tgaattatag ggtagataat gtcggcacia ccgtttgata agtagtacga gtactttatt 9789

tggcgccacc gcgccagcat cagatgtgtg gcctttgcac tgattgaatc caaaagaaaa 9849

aaaaagtcgt ttgggtccca cacaattcta cttcatctgc aggatgtaca gaaggttaca 9909

tatctattct gttctatgct ctgtttacat ttatatattat agtactaggt tgaaagggct 9969

cacttggtgg ctgtcattgg ttggctgggt cggtatatta ctaataggtt ttttaatggc 10029

atatatgttc ttaaaataaa ccagaaaagc aaaagatcaa ctatcttagc cacaccaatg 10089

aatggaata tactgaactg tcacggctaa aattctcttc agtcacctgg cccaactgga 10149

gccgtgggct cgtcgtcttt tctaaacatg tactagtatt ttggggggccc acagtgaatt 10209

tggcccaaaa tgctgacagc cgctctacgg ctctacgctg tgcag at ggg cgg ttc 10265

Tyr Gly Arg Phe

140

atg atg cgg ctg aag ctg cca aac ggt gtg acg acg agc gag cag acg 10313

Met Met Arg Leu Lys Leu Pro Asn Gly Val Thr Thr Ser Glu Gln Thr

51 / 68

|   |     |     |       |
|---|-----|-----|-------|
| 145   | 150 | 155 |       |
| agg tac ctg gcg agc gtg atc gag gcg tac ggc aag gag ggc tgc gcc |     |     | 10361 |
| Arg Tyr Leu Ala Ser Val Ile Glu Ala Tyr Gly Lys Glu Gly Cys Ala |     |     |       |
| 160   | 165 | 170 |       |
| gac gtg aca acc cgc cag aac tgg cag atc cgc ggc gtc acg ctc ccc |     |     | 10409 |
| Asp Val Thr Thr Arg Gln Asn Trp Gln Ile Arg Gly Val Thr Leu Pro |     |     |       |
| 175   | 180 | 185 |       |
| gac gtg ccg gcc atc ctc gac ggg ctc aac gcc gtc ggc ctc acc agc |     |     | 10457 |
| Asp Val Pro Ala Ile Leu Asp Gly Leu Asn Ala Val Gly Leu Thr Ser |     |     |       |
| 190   | 195 | 200 |       |
| ctc cag agc ggc atg gac aac gtc cgc aac ccc gtc ggc aac ccg ctc |     |     | 10505 |
| Leu Gln Ser Gly Met Asp Asn Val Arg Asn Pro Val Gly Asn Pro Leu |     |     |       |
| 205   | 210 | 215 | 220   |
| gcc ggc atc gac ccc gac gag atc gtc gac acg cga tcc tac acc aac |     |     | 10553 |
| Ala Gly Ile Asp Pro Asp Glu Ile Val Asp Thr Arg Ser Tyr Thr Asn |     |     |       |
| 225   | 230 | 235 |       |
| ctc ctc tcc tcc tac atc acc agc aac ttc cag ggc aac ccc acc atc |     |     | 10601 |
| Leu Leu Ser Ser Tyr Ile Thr Ser Asn Phe Gln Gly Asn Pro Thr Ile |     |     |       |
| 240   | 245 | 250 |       |

5 2 / 6 8

acc aac ct gtgagtgatc gaatcaaatt gatcatgctc tgtgctgtgc 10649

Thr Asn Leu

tgtttcgtgt cgtctctgac gacatgtttg ttgaatttgt tgttgctgcg tgctgttggc 10709

ag g ccg agg aag tgg aac gtg tgc gtg atc ggg tcg cac gat ctg tac 10757

Pro Arg Lys Trp Asn Val Cys Val Ile Gly Ser His Asp Leu Tyr

260

265

270

gag cac cca cac atc aac gac ctc gcg tac atg ccg gcg gtg aag ggc 10805

Glu His Pro His Ile Asn Asp Leu Ala Tyr Met Pro Ala Val Lys Gly

275

280

285

ggc aag ttc ggg ttc aac ctc ctc gtc ggc ggg ttc ata agc ccc aag 10853

Gly Lys Phe Gly Phe Asn Leu Leu Val Gly Gly Phe Ile Ser Pro Lys

290

295

300

agg tgg gag gag gcg ctg ccg ctc gac gcc tgg gtc ccc ggc gac gac 10901

Arg Trp Glu Glu Ala Leu Pro Leu Asp Ala Trp Val Pro Gly Asp Asp

305

310

315

atc atc ccg gtg tgc aag gcc gtt ctc gag gcg tac cgc gac ctc ggc 10949

Ile Ile Pro Val Cys Lys Ala Val Leu Glu Ala Tyr Arg Asp Leu Gly

320

325

330

5 3 / 6 8

acc agg ggc aac cgc cag aag acc cgc atg atg tgg ctc atc gac gaa 10997  
 Thr Arg Gly Asn Arg Gln Lys Thr Arg Met Met Trp Leu Ile Asp Glu  
 335 340 345 350

ctt gtgaaccatt tttttctcca ttcattccacg ccattgactg aattacgtat 11050  
 Leu

gtcccaatgt tcttatcagt taattgcggt gttggcattg cag gga atg gag gct 11105  
 Gly Met Glu Ala  
 355

ttt cgg tcg gag gtg gag aag agg atg ccg aac ggc gtg ctg gag cgc 11153  
 Phe Arg Ser Glu Val Glu Lys Arg Met Pro Asn Gly Val Leu Glu Arg  
 360 365 370

gcg gcg ccg gag gac ctc atc gac aag aaa tgg cag agg agg gac tac 11201  
 Ala Ala Pro Glu Asp Leu Ile Asp Lys Lys Trp Gln Arg Arg Asp Tyr  
 375 380 385

ctc ggc gtg cac ccg cag aag cag gaa ggg atg tcc tac gtc ggc ctg 11249  
 Leu Gly Val His Pro Gln Lys Gln Glu Gly Met Ser Tyr Val Gly Leu  
 390 395 400

cac gtg ccc gtc ggc cgg gtg cag gcg gcg gac atg ttc gag ctc gca 11297  
 His Val Pro Val Gly Arg Val Gln Ala Ala Asp Met Phe Glu Leu Ala

5 4 / 6 8

|   |     |     |       |
|---|-----|-----|-------|
| 405   | 410 | 415 |       |
| cgc ctc gcc gac gag tac ggc tcc ggc gag ctc cgc ctc acc gtg gag |     |     | 11345 |
| Arg Leu Ala Asp Glu Tyr Gly Ser Gly Glu Leu Arg Leu Thr Val Glu |     |     |       |
| 420   | 425 | 430 | 435   |
| cag aac atc gtg atc ccg aac gtc aag aac gag aag gtg gag gcg ctg |     |     | 11393 |
| Gln Asn Ile Val Ile Pro Asn Val Lys Asn Glu Lys Val Glu Ala Leu |     |     |       |
|   | 440 | 445 | 450   |
| ctc tcc gag ccg ctg ctt cag aag ttc tcc ccg cag ccg tcg ctg ctg |     |     | 11441 |
| Leu Ser Glu Pro Leu Leu Gln Lys Phe Ser Pro Gln Pro Ser Leu Leu |     |     |       |
|   | 455 | 460 | 465   |
| ctc aag ggc ctc gtc gcg tgc acc ggc aac cag ttc tgc ggc cag gcc |     |     | 11489 |
| Leu Lys Gly Leu Val Ala Cys Thr Gly Asn Gln Phe Cys Gly Gln Ala |     |     |       |
|   | 470 | 475 | 480   |
| atc atc gag acg aag cag cgg gcg ctg ctg gtg acg tcg cag gtg gag |     |     | 11537 |
| Ile Ile Glu Thr Lys Gln Arg Ala Leu Leu Val Thr Ser Gln Val Glu |     |     |       |
| 485   | 490 | 495 |       |
| aag ctc gtg tcg gtg ccc cgg gcg gtg cgg atg cac tgg acc ggc tgc |     |     | 11585 |
| Lys Leu Val Ser Val Pro Arg Ala Val Arg Met His Trp Thr Gly Cys |     |     |       |
| 500   | 505 | 510 | 515   |

5 5 / 6 8

ccc aac agc tgc ggc cag gtg cag gtc gcc gac atc ggc ttc atg ggc 11633

Pro Asn Ser Cys Gly Gln Val Gln Val Ala Asp Ile Gly Phe Met Gly

520

525

530

tgc ctc acc aag gac agc gcc ggc aag atc gtt gag gcg gcc gac atc 11681

Cys Leu Thr Lys Asp Ser Ala Gly Lys Ile Val Glu Ala Ala Asp Ile

535

540

545

ttc gtc ggc ggc cgc gtc ggc agc gac tcg cac ctc gcc ggc gcg tac 11729

Phe Val Gly Gly Arg Val Gly Ser Asp Ser His Leu Ala Gly Ala Tyr

550

555

560

aag aag tcc gtg ccg tgc gac gag ctg gcg ccg atc gtc gcc gac atc 11777

Lys Lys Ser Val Pro Cys Asp Glu Leu Ala Pro Ile Val Ala Asp Ile

565

570

575

ctg gtc gag cgg ttc ggg gcc gtg cgg agg gag agg gag gag gac gag 11825

Leu Val Glu Arg Phe Gly Ala Val Arg Arg Glu Arg Glu Glu Asp Glu

580

585

590

595

gag tag gaacacagac tggggtgttt tgcttgctcc ggtgatctct cgccgtcctt 11881

Glu

gtaaagtaga cgacaatatg ccttcgccca tggcacgctt gtactgtcac gttttggttt 11941

56 / 68

gatctttag cccaaaagtt gtgttcattc tcgttacagt cttacagagg atgattgatt 12001

gataaataaa gaagaaacag attctgcaac tggtcatcgc tggttcctaaa tctgatttag 12061

cgaaagtatc ttgcctgacc tgtcccaatc gcagtgctaa aaccatataa tcttgcaagc 12121

aatgaaatt gaaagagttc aatgcaacca ctaacagtct aacaacatga taaggcct 12179

<210> 5

<211> 2508

<212> DNA

<213> Oryza sativa

<220>

<221> CDS

<222> (519)..(2309)

<223>

<400> 5

tatcgaacct tatctccttc tctctcgtcg ctttctgagt ctccccgtct ctcttcgcc 60

aacagccgag aagaggcaga gagagcgccg cccccgtcc ctctctctcc ctctcgtcct 120

cgccccatc cctctcgtct ttcccttgcc ggcagcagag gaggcggcag cgacggcttc 180



5 7 / 6 8

|   |     |
|---|-----|
| agctgctccc acgggcccga tcgggcagtg gcggtggcgt cggcggcttc cgctggcgaa | 240 |
| tccggcgggt ggatacaaat cagtgttccg ataggtaaaa ccctgctctc agcatctgcc | 300 |
| cttttgaatt cgccaagagc cagcatctgc ctttttgaat tcgccaaggg ccagcatctg | 360 |
| cccatttgat tttgaattcg ccaagagcca gcaacagcgc ccccgcgccc cctccctcct | 420 |
| ccgcaataaa cagccacacg cgccgcccc atgtccacc tcctcgccac agcgcaccac   | 480 |
| caccaccacc accaccacca ccaccaccgt ctccagcc atg gcc tcc tcc gcc tcc | 536 |
| Met Ala Ser Ser Ala Ser   |     |
| 1 5   |     |
| ctg cag cgc ttc ctc ccc ccg tac ccc cac gcg gca gca tcc cgc tgc   | 584 |
| Leu Gln Arg Phe Leu Pro Pro Tyr Pro His Ala Ala Ala Ser Arg Cys   |     |
| 10 15 20  |     |
| cgc cct ccc ggc gtc cgc gcc cgc ccc gtg cag tcg tcg acg gtg tcc   | 632 |
| Arg Pro Pro Gly Val Arg Ala Arg Pro Val Gln Ser Ser Thr Val Ser   |     |
| 25 30 35  |     |
| gca ccg tcc tcc tcg act ccg gcg gcg gac gag gcc gtg tcg gcg gag   | 680 |
| Ala Pro Ser Ser Ser Thr Pro Ala Ala Asp Glu Ala Val Ser Ala Glu   |     |
| 40 45 50  |     |

58 / 68

cgg ctg gag ccg cgg gtg gag cag cgg gag ggc cgg tac tgg gtg ctc 728  
 Arg Leu Glu Pro Arg Val Glu Gln Arg Glu Gly Arg Tyr Trp Val Leu  
 55 60 65 70

aag gag aag tac cgg acg ggg ctg aac ccg cag gag aag gtg aag ctg 776  
 Lys Glu Lys Tyr Arg Thr Gly Leu Asn Pro Gln Glu Lys Val Lys Leu  
 75 80 85

ggg aag gag ccc atg tca ttg ttc atg gag ggc ggc atc aag gag ctc 824  
 Gly Lys Glu Pro Met Ser Leu Phe Met Glu Gly Gly Ile Lys Glu Leu  
 90 95 100

gce aag atg ccc atg gag gag atc gag gcc gac aag ctc tcc aag gag 872  
 Ala Lys Met Pro Met Glu Glu Ile Glu Ala Asp Lys Leu Ser Lys Glu  
 105 110 115

gac atc gac gtg cgg ctc aag tgg ctc ggc ctc ttc cac cgc cgc aag 920  
 Asp Ile Asp Val Arg Leu Lys Trp Leu Gly Leu Phe His Arg Arg Lys  
 120 125 130

cat cag tat ggg cgg ttc atg atg cgg ctg aag ctg cca aac ggt gtg 968  
 His Gln Tyr Gly Arg Phe Met Met Arg Leu Lys Leu Pro Asn Gly Val  
 135 140 145 150

acg acg agc gag cag acg agg tac ctg gcg agc gtg atc gag gcg tac 1016  
 Thr Thr Ser Glu Gln Thr Arg Tyr Leu Ala Ser Val Ile Glu Ala Tyr

5 9 / 6 8

|   |     |     |      |
|---|-----|-----|------|
| 155   | 160 | 165 |      |
| ggc aag gag ggc tgc gcc gac gtg aca acc cgc cag aac tgg cag atc |     |     | 1064 |
| Gly Lys Glu Gly Cys Ala Asp Val Thr Thr Arg Gln Asn Trp Gln Ile |     |     |      |
| 170   | 175 | 180 |      |
| cgc ggc gtc acg ctc ccc gac gtg ccg gcc atc ctc gac ggg ctc aac |     |     | 1112 |
| Arg Gly Val Thr Leu Pro Asp Val Pro Ala Ile Leu Asp Gly Leu Asn |     |     |      |
| 185   | 190 | 195 |      |
| gcc gtc ggc ctc acc agc ctc cag agc ggc atg gac aac gtc cgc aac |     |     | 1160 |
| Ala Val Gly Leu Thr Ser Leu Gln Ser Gly Met Asp Asn Val Arg Asn |     |     |      |
| - 200   | 205 | 210 |      |
| ccc gtc ggc aac ccg ctc gcc ggc atc gac ccc gac gag atc gtc gac |     |     | 1208 |
| Pro Val Gly Asn Pro Leu Ala Gly Ile Asp Pro Asp Glu Ile Val Asp |     |     |      |
| 215   | 220 | 225 | 230  |
| acg cga tcc tac acc aac ctc ctc tcc tcc tac atc acc agc aac ttc |     |     | 1256 |
| Thr Arg Ser Tyr Thr Asn Leu Leu Ser Ser Tyr Ile Thr Ser Asn Phe |     |     |      |
| 235   | 240 | 245 |      |
| cag ggc aac ccc acc atc acc aac ctg ccg agg aag tgg aac gtg tgc |     |     | 1304 |
| Gln Gly Asn Pro Thr Ile Thr Asn Leu Pro Arg Lys Trp Asn Val Cys |     |     |      |
| 250   | 255 | 260 |      |

60 / 68

gtg atc ggg tcg cac gat ctg tac gag cac cca cac atc aac gac ctc 1352

Val Ile Gly Ser His Asp Leu Tyr Glu His Pro His Ile Asn Asp Leu

265

270

275

gcg tac atg ccg gcg gtg aag ggc ggc aag ttc ggg ttc aac ctc ctc 1400

Ala Tyr Met Pro Ala Val Lys Gly Gly Lys Phe Gly Phe Asn Leu Leu

280

285

290

gtc ggc ggg ttc ata agc ccc aag agg tgg gag gag gcg ctg ccg ctc 1448

Val Gly Gly Phe Ile Ser Pro Lys Arg Trp Glu Glu Ala Leu Pro Leu

295

300

305

310

gac gcc tgg gtc ccc ggc gac gac atc atc ccg gtg tgc aag gcc gtt 1496

Asp Ala Trp Val Pro Gly Asp Asp Ile Ile Pro Val Cys Lys Ala Val

315

320

325

ctc gag gcg tac cgc gac ctc ggc acc agg ggc aac cgc cag aag acc 1544

Leu Glu Ala Tyr Arg Asp Leu Gly Thr Arg Gly Asn Arg Gln Lys Thr

330

335

340

cgc atg atg tgg ctc atc gac gaa ctt gga atg gag gct ttt cgg tcg 1592

Arg Met Met Trp Leu Ile Asp Glu Leu Gly Met Glu Ala Phe Arg Ser

345

350

355

gag gtg gag aag agg atg ccg aac ggc gtg ctg gag cgc gcg gcg ccg 1640

Glu Val Glu Lys Arg Met Pro Asn Gly Val Leu Glu Arg Ala Ala Pro

61 / 68

|   |     |     |      |
|---|-----|-----|------|
| 360   | 365 | 370 |      |
| gag gac ctc atc gac aag aaa tgg cag agg agg gac tac ctc ggc gtg |     |     | 1688 |
| Glu Asp Leu Ile Asp Lys Lys Trp Gln Arg Arg Asp Tyr Leu Gly Val |     |     |      |
| 375   | 380 | 385 | 390  |
| cac ccg cag aag cag gaa ggg atg tcc tac gtc ggc ctg cac gtg ccc |     |     | 1736 |
| His Pro Gln Lys Gln Glu Gly Met Ser Tyr Val Gly Leu His Val Pro |     |     |      |
|   | 395 | 400 | 405  |
| gtc ggc cgg gtg cag gcg gcg gac atg ttc gag ctc gca cgc ctc gcc |     |     | 1784 |
| Val Gly Arg Val Gln Ala Ala Asp Met Phe Glu Leu Ala Arg Leu Ala |     |     |      |
|   | 410 | 415 | 420  |
| gac gag tac ggc tcc ggc gag ctc cgc ctc acc gtg gag cag aac atc |     |     | 1832 |
| Asp Glu Tyr Gly Ser Gly Glu Leu Arg Leu Thr Val Glu Gln Asn Ile |     |     |      |
| 425   | 430 | 435 |      |
| gtg atc ccg aac gtc aag aac gag aag gtg gag gcg ctg ctc tcc gag |     |     | 1880 |
| Val Ile Pro Asn Val Lys Asn Glu Lys Val Glu Ala Leu Leu Ser Glu |     |     |      |
| 440   | 445 | 450 |      |
| ccg ctg ctt cag aag ttc tcc ccg cag ccg tcg ctg ctg ctc aag ggc |     |     | 1928 |
| Pro Leu Leu Gln Lys Phe Ser Pro Gln Pro Ser Leu Leu Leu Lys Gly |     |     |      |
| 455   | 460 | 465 | 470  |

6 2 / 6 8

ctc gtc gcg tgc acc ggc aac cag ttc tgc ggc cag gcc atc atc gag 1976

Leu Val Ala Cys Thr Gly Asn Gln Phe Cys Gly Gln Ala Ile Ile Glu

475

480

485

acg aag cag cgg gcg ctg ctg gtg acg tcg cag gtg gag aag ctc gtg 2024

Thr Lys Gln Arg Ala Leu Leu Val Thr Ser Gln Val Glu Lys Leu Val

490

495

500

tcg gtg ccc cgg gcg gtg cgg atg cac tgg acc ggc tgc ccc aac agc 2072

Ser Val Pro Arg Ala Val Arg Met His Trp Thr Gly Cys Pro Asn Ser

505

510

515

tgc ggc cag gtg cag gtc gcc gac atc ggc ttc atg ggc tgc ctc acc 2120

Cys Gly Gln Val Gln Val Ala Asp Ile Gly Phe Met Gly Cys Leu Thr

520

525

530

aag gac agc gcc ggc aag atc gtt gag gcg gcc gac atc ttc gtc ggc 2168

Lys Asp Ser Ala Gly Lys Ile Val Glu Ala Ala Asp Ile Phe Val Gly

535

540

545

550

ggc cgc gtc ggc agc gac tcg cac ctc gcc ggc gcg tac aag aag tcc 2216

Gly Arg Val Gly Ser Asp Ser His Leu Ala Gly Ala Tyr Lys Lys Ser

555

560

565

gtg ccg tgc gac gag ctg gcg ccg atc gtc gcc gac atc ctg gtc gag 2264

Val Pro Cys Asp Glu Leu Ala Pro Ile Val Ala Asp Ile Leu Val Glu

6 3 / 6 8

570

575

580

cgg ttc ggg gcc gtg cgg agg gag agg gag gag gac gag gag tag 2309

Arg Phe Gly Ala Val Arg Arg Glu Arg Glu Glu Asp Glu Glu

585

590

595

gaacacagac tgggggtgttt tgcttgctcc ggtgatctct cgccgtcctt gtaaagtaga 2369

cgacaatatg ccttcgcccc tggcacgctt gtactgtcac gttttggttt gatctttag 2429

cccaaaagtt gtgttcattc tcgttacagt cttacagagg atgattgatt gataaataaa 2489

gaagaaacag attctgcaa 2508

&lt;210&gt; 6

&lt;211&gt; 596 ---

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Oryza sativa

&lt;400&gt; 6

Met Ala Ser Ser Ala Ser Leu Gln Arg Phe Leu Pro Pro Tyr Pro His

1

5

10

15

Ala Ala Ala Ser Arg Cys Arg Pro Pro Gly Val Arg Ala Arg Pro Val

20

25

30

64 / 68

Gln Ser Ser Thr Val Ser Ala Pro Ser Ser Ser Thr Pro Ala Ala Asp

35

40

45

Glu Ala Val Ser Ala Glu Arg Leu Glu Pro Arg Val Glu Gln Arg Glu

50

55

60

Gly Arg Tyr Trp Val Leu Lys Glu Lys Tyr Arg Thr Gly Leu Asn Pro

65

70

75

80

Gln Glu Lys Val Lys Leu Gly Lys Glu Pro Met Ser Leu Phe Met Glu

85

90

95

Gly Gly Ile Lys Glu Leu Ala Lys Met Pro Met Glu Glu Ile Glu Ala

100

105

110

Asp Lys Leu Ser Lys Glu Asp Ile Asp Val Arg Leu Lys Trp Leu Gly

115

120

125

Leu Phe His Arg Arg Lys His Gln Tyr Gly Arg Phe Met Met Arg Leu

130

135

140

Lys Leu Pro Asn Gly Val Thr Thr Ser Glu Gln Thr Arg Tyr Leu Ala

145

150

155

160

Ser Val Ile Glu Ala Tyr Gly Lys Glu Gly Cys Ala Asp Val Thr Thr



65 / 68

|   |     |         |
|---|-----|---------|
| 165   | 170 | 175     |
| Arg Gln Asn Trp Gln Ile Arg Gly Val Thr Leu Pro Asp Val Pro Ala |     |         |
| 180   | 185 | 190     |
| Ile Leu Asp Gly Leu Asn Ala Val Gly Leu Thr Ser Leu Gln Ser Gly |     |         |
| 195   | 200 | 205     |
| Met Asp Asn Val Arg Asn Pro Val Gly Asn Pro Leu Ala Gly Ile Asp |     |         |
| 210   | 215 | 220     |
| Pro Asp Glu Ile Val Asp Thr Arg Ser Tyr Thr Asn Leu Leu Ser Ser |     |         |
| 225   | 230 | 235 240 |
| Tyr Ile Thr Ser Asn Phe Gln Gly Asn Pro Thr Ile Thr Asn Leu Pro |     |         |
| 245   | 250 | 255     |
| Arg Lys Trp Asn Val Cys Val Ile Gly Ser His Asp Leu Tyr Glu His |     |         |
| 260   | 265 | 270     |
| Pro His Ile Asn Asp Leu Ala Tyr Met Pro Ala Val Lys Gly Gly Lys |     |         |
| 275   | 280 | 285     |
| Phe Gly Phe Asn Leu Leu Val Gly Gly Phe Ile Ser Pro Lys Arg Trp |     |         |
| 290   | 295 | 300     |

66 / 68

Glu Glu Ala Leu Pro Leu Asp Ala Trp Val Pro Gly Asp Asp Ile Ile

305 310 315 320

Pro Val Cys Lys Ala Val Leu Glu Ala Tyr Arg Asp Leu Gly Thr Arg

325 330 335

Gly Asn Arg Gln Lys Thr Arg Met Met Trp Leu Ile Asp Glu Leu Gly

340 345 350

Met Glu Ala Phe Arg Ser Glu Val Glu Lys Arg Met Pro Asn Gly Val

355 360 365

Leu Glu Arg Ala Ala Pro Glu Asp Leu Ile Asp Lys Lys Trp Gln Arg

370 375 380

Arg Asp Tyr Leu Gly Val His Pro Gln Lys Gln Glu Gly Met Ser Tyr

385 390 395 400

Val Gly Leu His Val Pro Val Gly Arg Val Gln Ala Ala Asp Met Phe

405 410 415

Glu Leu Ala Arg Leu Ala Asp Glu Tyr Gly Ser Gly Glu Leu Arg Leu

420 425 430

Thr Val Glu Gln Asn Ile Val Ile Pro Asn Val Lys Asn Glu Lys Val

435 440 445

67 / 68

Glu Ala Leu Leu Ser Glu Pro Leu Leu Gln Lys Phe Ser Pro Gln Pro  
450 455 460

Ser Leu Leu Leu Lys Gly Leu Val Ala Cys Thr Gly Asn Gln Phe Cys  
465 470 475 480

Gly Gln Ala Ile Ile Glu Thr Lys Gln Arg Ala Leu Leu Val Thr Ser  
485 490 495

Gln Val Glu Lys Leu Val Ser Val Pro Arg Ala Val Arg Met His Trp  
500 505 510

Thr Gly Cys Pro Asn Ser Cys Gly Gln Val Gln Val Ala Asp Ile Gly  
515 520 525

Phe Met Gly Cys Leu Thr Lys Asp Ser Ala Gly Lys Ile Val Glu Ala  
530 535 540

Ala Asp Ile Phe Val Gly Gly Arg Val Gly Ser Asp Ser His Leu Ala  
545 550 555 560

Gly Ala Tyr Lys Lys Ser Val Pro Cys Asp Glu Leu Ala Pro Ile Val  
565 570 575

Ala Asp Ile Leu Val Glu Arg Phe Gly Ala Val Arg Arg Glu Arg Glu

68 / 68

580

585

590

Glu Asp Glu Glu

595

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/011307

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C12N15/09, A01H1/00, A01H5/00, C12N5/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C12N15/09, A01H1/00, A01H5/00, C12N5/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

MEDLINE (STN), WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), JSTPlus (JOIS), GenBank/  
EMBL/DDBJ/GeneSeq. SwissProt/PIR/GeneSeq

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

| Category* | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
|-----------|--|-----------------------|
| X         | TERADA, Y. et al., Cloning and nucleotide sequence of a leaf ferredoxin-nitrite reductase cDNA of rice., Biosci.Biotechnol. Biochem., (1995), Vol.59, pages 2183 to 2185   | 1-15                  |
| A         | TAGUCHI-SHIOBARA, F., Genetic Analysis of Regeneration Ability of Rice Seed Callus., Nogyo Seibutsu Shigen Kenkyusho Kenkyu Hokoku, Bulletin of the National Institute of Agrobiological Resources (1999), Vol.13, pages 97 to 134 | 1-22                  |
| A         | Fumio SHIOBARA, "Koshihikari ni Takai Callus Keiseino Oyobi Saibunkano o Fuyo suru Tameno QTL Kaiseki", Seibutsu Shigen Kenkyu Seika Joho (1998), Vol.7, pages 45 to 46  | 1-22                  |

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
08 November, 2004 (08.11.04)

Date of mailing of the international search report  
30 November, 2004 (22.11.04)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/011307

| C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT |  |                       |
|---|--|-----------------------|
| Category*   | Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages   | Relevant to claim No. |
| A   | Fumio TAGUCHI et al., "Ine Shushi Callus no Saibunkano ni Kanyo suru QTL no Mapping", Breeding Science, (1996), Vol.46, Bessatsu 1, page 77  | 1-22                  |
| A   | TAGUCHI-SHIOBARA, F. et al., Mapping quantitative trait loci associated with regeneration of ability of seed callus in rice, Oryza sativa L., Theoretical and Applied Genetics (1997), Vol.95, No.5 to 6, pages 828 to 833 | 1-22                  |
| A   | Kenjiro OZAWA et al., "Ine Saibunkano no Iden Kaiseki Oyobi Kosaibunkano Ikushu Sozai no Kaihatsu"   | 1-22                  |
| A   | Toshinori ABE, "Ine no Datsubunka Saibunka no Identeki Shihai", Heisei 5, 6 Nendo kagaku Kenkyuhi Hojokin (Sogokenkyu A), Kenkyu Seika Hokokusho, (1995), pages 32 to 38   | 1-22                  |

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2004/011307

**Box No. I** Nucleotide and/or amino acid sequence(s) (Continuation of item 1.b of the first sheet)

1. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application and necessary to the claimed invention, the international search was carried out on the basis of:
  - a. type of material
    - ☒ a sequence listing
    - ☐ table(s) related to the sequence listing
  - b. format of material
    - ☐ in written format
    - ☒ in computer readable form
  - c. time of filing/furnishing
    - ☐ contained in the international application as filed
    - ☒ filed together with the international application in computer readable form
    - ☐ furnished subsequently to this Authority for the purposes of search
2. ☒ In addition, in the case that more than one version or copy of a sequence listing and/or table relating thereto has been filed or furnished, the required statements that the information in the subsequent or additional copies is identical to that in the application as filed or does not go beyond the application as filed, as appropriate, were furnished.
3. Additional comments:

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> C12N 15/09, A01H 1/00, A01H 5/00, C12N 5/04

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))  
Int. Cl<sup>7</sup> C12N 15/09, A01H 1/00, A01H 5/00, C12N 5/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で利用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)  
MEDLINE (STN), WPI (DIALOG), BIOSIS (DIALOG), JSTPlus (JOIS), GenBank/EMBL/DBJ/GeneSeq, SwissProt/PIR/GeneSeq

C. 関連すると認められる文献

| 引用文献の<br>カテゴリー* | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示  | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
|-----------------|--|------------------|
| X               | TERADA, Y. et al., Cloning and nucleotide sequence of a leaf ferredoxin-nitrite reductase cDNA of rice.<br>Biosci. Biotechnol. Biochem. (1995) Vol. 59, p. 2183-2185 | 1-15             |
| A               | TAGUCHI-SHIOBARA, F., Genetic Analysis of Regeneration Ability of Rice Seed Callus.<br>農業生物資源研究所研究報告 (1999) 第13巻<br>第97-134頁   | 1-22             |

☒ C欄の続きにも文献が列挙されている。

☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

\* 引用文献のカテゴリー

「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの

「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの

「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)

「O」 口頭による開示、使用、展示等に関する文献

「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

08.11.2004

国際調査報告の発送日

30.11.2004

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/J P)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

左海 匡子

4N

3038

電話番号 03-3581-1101 内線 3488



| C (続き) . 関連すると認められる文献 |  |                  |
|-----------------------|--|------------------|
| 引用文献の<br>カテゴリー*       | 引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示  | 関連する<br>請求の範囲の番号 |
| A                     | 塩原文緒, コシヒカリに高いカルス形成能及び再分化能を付与するためのQTL解析<br>生物資源研究成果情報 (1998) 第7巻第45-46頁  | 1-22             |
| A                     | 田口文緒ほか, イネ種子カルスの再分化能に関与するQTLのマッピング<br>育種学雑誌 (1996) 第46巻別冊1第77頁   | 1-22             |
| A                     | TAGUCHI-SHIOBARA, F. et al., Mapping quantitative trait loci associated with regeneration ability of seed callus in rice, <i>Oryza sativa</i> L.<br>Theoretical and Applied Genetics (1997) Vol. 95, No. 5-6, p. 828-833 | 1-22             |
| A                     | 小沢憲次郎ほか, イネ再分化能の遺伝解析及び高再分化能育種素材の開発   | 1-22             |
| A                     | 阿部利徳, イネの脱分化・再分化の遺伝的支配<br>平成5, 6年度科学研究費補助金 (総合研究A) 研究成果報告書 (1995) 第32-38頁  | 1-22             |

## 第 I 欄ヌクレオチド又はアミノ酸配列 (第 1 ページの 1. b の続き)

1. この国際出願で開示されかつ請求の範囲に係る発明に必要なヌクレオチド又はアミノ酸配列に関して、以下に基づき国際調査を行った。

a. タイプ ☒ 配列表

☐ 配列表に関連するテーブル

b. フォーマット ☐ 書面

☒ コンピュータ読み取り可能な形式

c. 提出時期 ☐ 出願時の国際出願に含まれる

☒ この国際出願と共にコンピュータ読み取り可能な形式により提出された

☐ 出願後に、調査のために、この国際調査機関に提出された

2. ☒ さらに、配列表又は配列表に関連するテーブルを提出した場合に、出願後に提出した配列若しくは追加して提出した配列が出願時に提出した配列と同一である旨、又は、出願時の開示を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

3. 補足意見:

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ ~~FADED~~ TEXT OR DRAWING
- ☒ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☐ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**